UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
FACULDADE DE NUTRIÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO E SAÚDE

JÉSSICA PEREIRA BARBOSA

POTENCIAL PREBIÓTICO DOS RESÍDUOS DE PUÇÁ (*Mouriri elliptica* Mart.) E GABIROBA (*Campomanesia adamantium* (Cambess.)) O. Berg EM DIFERENTES ESPÉCIES DE MICRO-ORGANISMOS PROBIÓTICOS

Goiânia
2021

UFG

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
FACULDADE DE NUTRIÇÃO

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO (TECA) PARA DISPONIBILIZAR VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES

E DISSERTAÇÕES NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei 9.610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

O conteúdo das Teses e Dissertações disponibilizado na BDTD/UFG é de responsabilidade exclusiva do autor. Ao encaminhar o produto final, o autor(a) e o(a) orientador(a) firmam o compromisso de que o trabalho não contém nenhuma violação de quaisquer direitos autorais ou outro direito de terceiros.

1. Identificação do material bibliográfico

[x] Dissertação [ ] Tese

2. Nome completo do autor

Jéssica Pereira Barbosa

3. Título do trabalho

Potencial prebiótico dos resíduos de puçá (Mouriri elliptica Mart.) e gabiroba (Campomanesia adamantium (Cambess.)) O. Berg em diferentes espécies de micro-organismos probióticos

4. Informações de acesso ao documento (este campo deve ser preenchido pelo orientador)

Concorda com a liberação total do documento [ ] SIM [x] NÃO[1]

[1] Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. Após esse período, a possível disponibilização ocorrerá apenas mediante:
a) consulta ao(à) autor(a) e ao(à) orientador(a);
b) novo Termo de Ciência e de Autorização (TECA) assinado e inserido no arquivo da tese ou dissertação.
O documento não será disponibilizado durante o período de embargo.
Casos de embargo:
- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

Obs. Este termo deverá ser assinado no SEI pelo orientador e pelo

autor.

Documento assinado eletronicamente por **JESSICA PEREIRA BARBOSA**, **Discente**, em 08/09/2021, às 16:46, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015.

Documento assinado eletronicamente por **Patricia Amaral Souza Tette**, **Professora do Magistério Superior**, em 09/09/2021, às 14:48, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015.

A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **2332286** e o código CRC **976B3D41**.

UFG

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
FACULDADE DE NUTRIÇÃO

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO (TECA) PARA DISPONIBILIZAR VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES

E DISSERTAÇÕES NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei 9.610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

O conteúdo das Teses e Dissertações disponibilizado na BDTD/UFG é de responsabilidade exclusiva do autor. Ao encaminhar o produto final, o autor(a) e o(a) orientador(a) firmam o compromisso de que o trabalho não contém nenhuma violação de quaisquer direitos autorais ou outro direito de terceiros.

1. Identificação do material bibliográfico

[x] Dissertação [ ] Tese [ ] Outro*:_____

*No caso de mestrado/doutorado profissional, indique o formato do Trabalho de Conclusão de Curso, permitido no documento de área, correspondente ao programa de pós-graduação, orientado pela legislação vigente da CAPES.

Exemplos: Estudo de caso ou Revisão sistemática ou outros formatos.

2. Nome completo do autor

Jéssica Pereira Barbosa

3. Título do trabalho

Potencial prebiótico dos resíduos de puçá (Mouriri elliptica Mart.) e gabiroba (Campomanesia adamantium (Cambess.)) O. Berg em diferentes espécies de micro-organismos probióticos

4. Informações de acesso ao documento (este campo deve ser preenchido pelo orientador)

Concorda com a liberação total do documento [x] SIM [ ] NÃO[1]

[1] Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. Após esse período, a possível disponibilização ocorrerá apenas mediante:
a) consulta ao(à) autor(a) e ao(à) orientador(a);
b) novo Termo de Ciência e de Autorização (TECA) assinado e inserido no arquivo da tese ou dissertação.
O documento não será disponibilizado durante o período de embargo.
Casos de embargo:
- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

Obs. Este termo deverá ser assinado no SEI pelo orientador e pelo autor.

Documento assinado eletronicamente por **Jéssica Pereira Barbosa**, **Discente**, em 27/01/2023, às 14:21, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.

Documento assinado eletronicamente por **Patricia Amaral Souza Tette**, **Professor do Magistério Superior**, em 27/01/2023, às 16:00, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.

A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **3486161** e o código CRC **3A35AEBE**.

Referência: Processo nº 23070.044298/2021-74 SEI nº 3486161

JÉSSICA PEREIRA BARBOSA

POTENCIAL PREBIÓTICO DOS RESÍDUOS DE PUÇÁ (*Mouriri elliptica* Mart.) E GABIROBA (*Campomanesia adamantium* (Cambess.)) O. Berg EM DIFERENTES ESPÉCIES DE MICRO-ORGANISMOS PROBIÓTICOS

Dissertação apresentada à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Saúde da Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Goiás, como exigência para obtenção do Título de Mestre em Nutrição e Saúde.
Área de concentração: Nutrição e Saúde
Linha de pesquisa: Segurança alimentar e nutricional e ciência dos alimentos

Orientador:
Profª Drª Patrícia Amaral Souza Tette

Projeto de pesquisa:
Resíduos do processamento de frutos do Cerrado: Potencial nutricional, prebiótico e preventivo de doenças crônicas

Financiamento:
Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)

Goiânia
2021

FICHA CATALOGRÁFICA

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do
Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

Barbosa , Jéssica Pereira
Potencial prebiótico dos resíduos de puçá (Mouriri elliptica mart.) e gabiroba (Campomanesia adamantium (cambess.)) O. Berg em diferentes espécies de micro-organismos probióticos [manuscrito] / Jéssica Pereira Barbosa . - 2021.
95 f.: il.

Orientador: Profa. Dra. Patrícia Amaral Souza Tette .
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás, Faculdade de Nutrição (Fanut) , Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Saúde, Goiânia, 2021.
Anexos.
Inclui siglas, fotografias, abreviaturas, gráfico, tabelas.

1. potencial prebiótico . 2. probiótico . 3. Lactobacillus . 4. Bifidobacterium . 5. Cerrado . I. Tette , Patrícia Amaral Souza , orient. II. Título.

CDU 612.39

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS

FACULDADE DE NUTRIÇÃO

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

Ata número **cento e setenta e oito** da sessão de Defesa de Dissertação de **Jéssica Pereira Barbosa**, que confere o título de Mestra em **Nutrição e Saúde**, na área de concentração em **Nutrição e Saúde**.

Aos trinta de agosto de dois mil e vinte e um, a partir das quatorze horas, **via webconferência**, realizou-se a sessão **Pública** de Defesa de Dissertação intitulada **"Potencial prebiótico dos resíduos de puçá (Mouriri elliptica Mart.) e gabiroba (Campomanesia adamantium (Cambess.)) O. Berg em diferentes espécies de micro-organismos probióticos"**. Os trabalhos foram instalados pela Orientadora, Professora Doutora **Patrícia Amaral Souza Tette (UFG)** com a participação dos demais membros da Banca Examinadora: Professora Doutora **Eliane Maurício Furtado Martins (IF Sudeste MG)**, membro titular externo; Professora Doutora **Sabrina Carvalho Bastos (UFLA)**, membro titular externo. A Banca Examinadora reuniu-se em sessão secreta a fim de concluir o julgamento da Dissertação, tendo sido a candidata **aprovada** pelos seus membros. Proclamados os resultados pela Professora Doutora **Patrícia Amaral Souza Tette**, Presidente da Banca Examinadora, foram encerrados os trabalhos e, para constar, lavrou-se a presente ata que é assinada pelos Membros da Banca Examinadora.

TÍTULO SUGERIDO PELA BANCA

Documento assinado eletronicamente por **Eliane Maurício Furtado Martins**, **Usuário Externo**, em 30/08/2021, às 08:28, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015.

Documento assinado eletronicamente por **Patricia Amaral Souza Tette**, **Professora do Magistério Superior**, em 31/08/2021, às 18:57, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015.

Documento assinado eletronicamente por **Sabrina Carvalho Bastos**, **Usuário Externo**, em 01/09/2021, às 07:39, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015.

A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **2297954** e o código CRC **BEA4576B**.

Referência: Processo nº 23070.044298/2021-74 SEI nº 2297954

À todos que me ajudaram a obter essa conquista.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha orientadora, Profª Drª Patrícia Tette, pela confiança em meu trabalho, pela orientação, amizade e apoio;

À professora Maria Margareth Naves, pelos conhecimentos compartilhados e apoio durante a pesquisa;

À Aline Alves e Camilla Rodrigues, técnicas do laboratório, pelos valiosos ensinamentos, paciência e compreensão;

À Esther Vaz e Monik Mariele, pelo companheirismo diário e auxílio durante todas as etapas desta pesquisa;

À Dennia Amorim, minha colega, pela colaboração na escrita dos artigos durante o mestrado;

Ao professor Luís Carlos Cunha, da Escola de Agronomia, pelo auxílio na coleta dos frutos do Cerrado;

Ao professor Alexandre Coelho, pela disponibilidade em auxiliar na estatística deste trabalho;

À Karem Lays Lopes, Nayra Figueiredo e Isabela Corrêa pela amizade, apoio e por dividirem comigo suas experiências;

À minha família, especialmente meu pai Luiz Fernando, minha mãe Lúcia e minha irmã Fernanda pela compreensão nos momentos difíceis, apoio e afeto;

À Deus por colocar nesta jornada pessoas maravilhosas que contribuíram direta ou indiretamente para este momento.

RESUMO

Puçá (*Mouriri elliptica* Mart) e gabiroba (*Campomanesia adamantium* (Cambess.) O. Berg) são frutos do Cerrado com alta qualidade nutricional e teor de compostos bioativos comprovadamente benéficos à saúde. Apresentam características favoráveis ao desenvolvimento de diversos produtos de interesse comercial. O processamento desses frutos pode gerar um volume significativo de resíduos, compostos principalmente por casca e sementes, que podem ter características nutricionais relevantes para alimentação humana, incluindo potencial prebiótico. Portanto, o objetivo deste estudo foi investigar o potencial prebiótico de resíduos de puçá (RP) e gabiroba (RG), frente a bactérias probióticas. A caracterização dos resíduos foi realizada por meio de análise centesimal, teor de fibras, açúcares, ácidos orgânicos e perfil de compostos fenólicos. A capacidade fermentativa de *Lactobacillus acidophilus* LA-05, *Lactobacillus casei* L-26 e *Bifidobacterium animalis* subsp. lactis BB-12 e os escores de atividade prebiótica (EAP) na presença de duas estirpes de *Escherichia coli* foram avaliados. RP e RG apresentaram elevados teores de fibra alimentar (55,70% e 65,29%), lipídios (18,48% e 13,05%) e RP apresentou considerável teor de carboidratos (12,90%). Concentrações consideráveis de compostos fenólicos foram encontradas nos resíduos: catequina (44,71 $mg.L^{-1}$ ± 1,49 em RG) e procianidina B2 (12,97 $mg.L^{-1}$ ± 0,33 em RP e 13,88 $mg.L^{-1}$ ± 0,72 em RG). O cultivo dos probióticos em meio contendo RP e RG (20 $g.L^{-1}$) foi promissor pois as contagens bacterianas foram elevadas (9,27-13,23 log $UFC.mL^{-1}$), o pH foi reduzido, os EAP foram positivos e semelhantes ao de fructooligossacarídeos (20 $g.L^{-1}$) para todas as estirpes, houve aumento da produção de ácidos graxos de cadeia curta (lático, acético e propiônico) e do consumo de glicose e frutose ao longo do tempo, indicando atividades metabólicas intensas. Os compostos fenólicos de ambos os resíduos pareceram estar envolvidos no mecanismo de atividade prebiótica positiva encontrada. Portanto, os resíduos de puçá e gabiroba são potenciais ingredientes prebióticos para uso na formulação de alimentos, aumentando o valor nutricional e reduzindo possíveis impactos negativos ao meio ambiente que seus descartes poderiam ocasionar.

Palavras-chave: potencial prebiótico; *Lactobacillus*; *Bididobacterium*; frutos do Cerrado.

ABSTRACT

Prebiotic potential of puçá (*Mouriri elliptica* Mart.) and gabiroba (*Campomanesia adamantium* (Cambess.)) O. Berg residues on different species of probiotic microorganisms

Puçá (*Mouriri elliptica* Mart) and gabiroba (*Campomanesia adamantium* (Cambess.) O. Berg) are fruits from Cerrado Savannah with high nutritional quality and content of bioactive compounds proved to be beneficial to health. Due to their favorable characteristics for industry food applicability, the fruit processing can generate a significant volume of residues, mainly composed by peel and seeds, that are nutritionally relevant and can be added into human food and may present prebiotic potential. Therefore, the aim of this study was to investigate the prebiotic potential of freeze-dried residues from puçá (PR) and gabiroba (GR). For this, the residues characterization was carried out through proximate analysis, fiber content, sugars, organic acids and phenolic compounds contents. The fermentative capacity of *Lactobacillus acidophilu*s LA-05, *Lactobacillus casei* L-26 and *Bifidobacterium animalis* subsp. lactis BB-12 and the prebiotic activity scores (PAS) in the presence of two strains of *Escherichia coli* were evaluated. PR and GR presented high levels of dietary fiber (55.70% and 65.29%), lipids (18.48% and 13.05%), and PR showed considerable carbohydrate content (12.90%). Substantial content of phenolic compounds were found in the residues: catechin (44.71 $mg.L^{-1}$ ± 1.49 in GR), procyanidin B2 (12.97 $mg.L^{-1}$ ± 0.33 in PR and 13.88 $mg.L^{-1}$ ± 0.72 in GR). Cultivation of the probiotics in media with PR and GR (20 $g.L^{-1}$) was promising, with high bacterial counts (9.27-13.23 log $CFU.mL^{-1}$), decrease in pH values and positive PAS for all strains, similar to fructooligosaccharides (20 $g.L^{-1}$), increased production of short-chain fatty acids (i.e., lactic, acetic, and propionic) and consumption of glucose and fructose over time, indicating intense metabolic activities. The phenolic compounds of the both residues may be involved on the mechanism of the prebiotic activity observed. Therefore, the residues from puçá and gabiroba are potential prebiotic ingredients for use in formulation of foods, increasing the nutritional value and reducing the negative impacts on the environment that can caused by their discard.

Keywords: prebiotic potential; probiotic; *Lactobacillus*; *Bifidobacterium*, Cerrado.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO

A flora brasileira é uma das mais biodiversificadas Savanas tropicais do mundo, em que destacam-se vários frutos comestíveis nativos do Cerrado[1]. Apresenta uma diversidade de espécies frutíferas de formatos, cores, aromas e sabores peculiares, sendo que a parte comestível destes frutos têm sido documentada na literatura, em termos de sua qualidade nutricional e conteúdo de compostos bioativos benéficos à saúde[2–4].

Entre as diversas espécies frutíferas do Cerrado, *Mouriri elliptica* Mart. é produzida por espécies da família *Melastomataceae* que pode ser encontrada em vários estados brasileiros, principalmente em Goiás[5]. O fruto, conhecido como puçá, possui formato arredondado de cor amarela-esverdeada e com a polpa laranja de sabor adocicado. Contém vitamina C, carotenóides, antocianinas e flavonóides, o que determina o seu elevado potencial antioxidante e justifica a sua inserção na alimentação humana[6,7]. Além da qualidade nutricional, o puçá apresenta características favoráveis, do ponto de vista tecnológico, para a aplicabilidade na indústria de polpas e sucos[7]. Outro fruto encontrado no Cerrado goiano é a gabiroba (*Campomanesia adamantium* (Cambess.)) O. Berg, que pertence à planta *Campomanesia adamantium*. Os frutos são pequenos, amarelo-esverdeados e de formato arredondado. Eles possuem polpa esbranquiçada envolvendo várias sementes e importantes nutrientes como fibras, ferro, potássio e cálcio, e elevados teores de antioxidantes[8]. A parte comestível da gabiroba apresenta sabor doce e rendimento consideravelmente alto, sendo um fator importante para intensificar seu uso como matéria-prima para compotas, geleias, sorvetes, picolés, sucos e licores, com boa aceitação sensorial[9,10].

Nesse sentido, observa-se que estes frutos apresentam potencial tecnológico para o desenvolvimento de produtos em escala industrial, sendo já utilizados para a produção de picolés em Goiás. No entanto, o processamento destes pode contribuir para a produção de uma quantidade significativa de resíduos, compostos principalmente pela casca e semente. Pela falta de

infraestrutura e informações para tratar os resíduos gerados, estes muitas vezes são descartados no meio ambiente sem qualquer utilização comercial[11].

As características das polpas de puçá e gabiroba já são conhecidas, porém estudos sobre a casca e semente são restritos apenas à composição centesimal e alguns compostos bioativos dos resíduos da gabiroba [8,12]. No entanto, sementes de frutos do Cerrado já apresentam grande potencial de aproveitamento devido ao alto teor de óleo, enquanto as cascas possuem concentrações consideráveis de fibras alimentares[13]. Dessa forma, os resíduos destes frutos podem apresentar características relevantes que tornam viáveis o desenvolvimento de alternativas para a sua utilização na elaboração de novos produtos de alto valor nutricional, uma vez que consumidores estão cada vez mais tendenciados a apresentar interesse maior em opções alimentares que apoiam a saúde intestinal[14]. Ao mesmo tempo, o estudo do resíduo traz soluções para a diminuição do impacto ambiental negativo causado pela geração excessiva desses subprodutos[15,16].

Estudos têm investigado o valor funcional de frutos e seus resíduos, visando seu aproveitamento pela indústria de alimentos, e a atividade prebiótica *in vitro*, utilizando culturas probióticas[11,17–19]. Os prebióticos são substratos alimentares que beneficiam o indivíduo estimulando seletivamente os microrganismos hospedeiros[20], promovendo melhorias na saúde como o aumento da absorção de minerais, estímulo do sistema imunológico, prevenção do câncer de cólon e de infecções gastrointestinais, e a redução do tempo de trânsito intestinal[21,22]. O alto teor de carboidratos não digeríveis presente em frutos os tornam uma potencial fonte de propriedades prebióticas[23].

Neste contexto, o presente estudo teve por objetivo avaliar o potencial prebiótico *in vitro* de resíduos do puçá e gabiroba. Para tanto, foi determinada a composição centesimal dos resíduos estudados, bem como a capacidade de culturas de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium,* com reconhecido potencial probiótico[24], em utilizar estes resíduos como fonte de carbono e nutrientes. Os efeitos dos resíduos sobre a atividade metabólica bacteriana também foram avaliados.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 CARACTERÍSTICAS FÍSICAS, SENSORIAIS E COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL DOS FRUTOS

2.1.1 *Mouriri elliptica* Mart.

A flora brasileira é caracterizada por uma grande diversidade, onde destacam-se vários frutos comestíveis nativos do Cerrado produzidos por espécies da família *Melastomataceae*. Como representante desta família, a *Mouriri elliptica* Mart. (Figura 1) é uma espécie que pode ser encontrada em vários estados brasileiros, como Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Tocantins, Ceará e Goiás. Os frutos são popularmente conhecidos como puçá, croada, coroa de frade, croadinha, puçazeiro e manipuçá. Pertencem à divisão *Magnoliophyta*, classe *Magnoliopsida,* subclasse *Rosidae,* superordem *Myrtanae* e ordem *Myrtales*[5].

É uma espécie frutífera arbórea, que pode atingir de quatro a seis metros de altura, típica do Cerrado, a frutificação ocorre de agosto a dezembro e por não ser climatérico, quando colhido verde, o fruto não amadurece[25]. Caracterizam-se por serem arredondados, amarelados-esverdeados e com mesocarpo laranja de sabor adocicado. Além da polpa, o puçá é composto por casca e três a cinco sementes de tegumento rígido e coloração amarronzada[25,26].

Figura 1. a) Planta adulta de *Mouriri elliptica* (Mart.); b) Frutos em maturação e suas flores; c) Fruto maduro com três sementes.

Fonte: própria autora, 2021.

A polpa do fruto apresenta elevado potencial antioxidante, em razão da presença de vitamina C, carotenóides, antocianinas e flavonóides, o que justifica a sua inserção na alimentação humana[6,7]. A espécie também possui propriedades medicinais, podendo ser um recurso para indústria farmacológica pela presença de ácidos fenólicos e taninos[27].

O fruto apresenta pH 4,42, considerado moderadamente ácido[7]. Em estudo feito por Sato et al.[28], a polpa de pitaya apresentou pH 4,75, enquanto na casca de mangostão foi 4,0, e na casca e polpa de mandacaru 4,7, valores semelhantes ao encontrado na polpa e casca do puçá. Além de determinar o estado de deterioração do fruto, o pH pode indicar a aplicabilidade do puçá na indústria alimentícia, uma vez que possui valores próximos a frutos amplamente utilizados para produção de polpas e sucos[29–32]. A polpa do puçá possui percentuais consideravelmente baixos de amido[6]. Do ponto de vista tecnológico, baixos níveis desse polissacarídeo pode auxiliar na extração manual da polpa, sendo mais uma característica favorável à inserção do fruto em nível industrial[33].

Apesar da escassez de estudos com o resíduo do puçá, composto por sementes e casca, essa fração do fruto também apresenta importância nutricional. Ao analisarem folhas e cascas de um fruto do mesmo gênero Mouriri, Bonacorsi et al.[34] observaram que este resíduo foi eficaz na cicatrização e prevenção de úlceras gástricas em ratos por apresentarem taninos, flavonóides e epicatequina em sua composição.

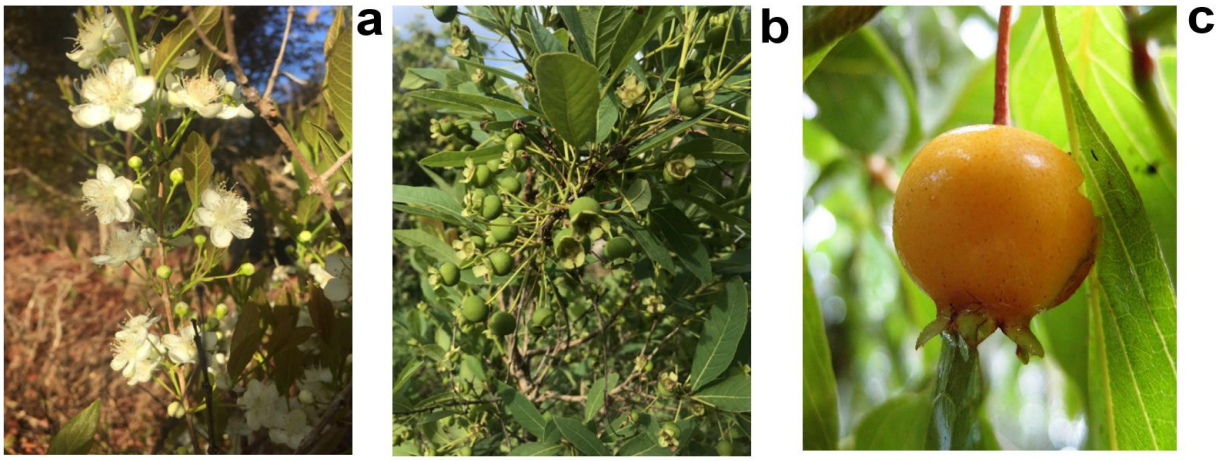
Nesse sentido, estudos sobre *Mouriri elliptica* Mart. são restritos a levantamentos sobre a polpa do fruto, enquanto análises das sementes e cascas se restringem à ciência agrotecnológica[26,35]. Por isso, a análise do resíduo total do puçá (casca e semente) é inovadora e importante para agregar valor nutricional a esse fruto pouco valorizado pela população local.

2.1.2 *Campomanesia adamantium* (Cambess.) O. Berg

A gabiroba, também conhecida como guabiroba, guabiroba-do-campo e guavira, pertence à família Myrtaceae, que inclui 130 gêneros e cerca de 4000 espécies. O fruto apresenta estrutura arredondada, sendo considerado um fruto do tipo baga. Sua coloração altera de acordo com o processo de maturação, podendo variar do verde-escuro ao amarelo e conter de uma a nove sementes

(Figura 2). Existem divergências entre os estudos que caracterizam fisicamente os frutos de *Campomanesia* sp., em razão das diferentes espécies existentes estudadas ainda não domesticadas, o que leva a variação das características morfofisiológicas do fruto correspondente e podendo também estar relacionada às condições climáticas da região e ao tipo de solo. Quando pronto para a colheita, o fruto de *Campomanesia pubescens* apresenta peso médio de 4,5 g, diâmetro longitudinal de 18 mm e diâmetro transversal de 19,5 mm[9,36].

Figura 2. a) Flores de *Campomanesia adamantium*; b) Frutos em maturação; c) Fruto maduro pronto para colheita.



Fonte: própria autora, 2021.

A parte comestível da gabiroba inclui a casca e a polpa, que apresenta coloração amarelada. Os frutos de *C. cambessedeana* apresentam peso total aproximado de 4 g e contam com 1,5 g de massa comestível. Por isso, o rendimento da polpa da gabiroba é considerado elevado, sendo um fator importante para o desenvolvimento de alternativas que promovam a sua utilização como matéria-prima[9]. Como outras espécies pertencentes à família *Myrtaceae*, a polpa do fruto apresenta aroma cítrico, agradável e sabor adocicado, o que leva a ser consumida *in natura* ou na forma de doces em compota, geleias, sorvetes, picolés, sucos e licores, apresentando boa aceitabilidade[10].

Dentre as diversas espécies de gabirobeiras (*Campomanesia* sp) existentes, os frutos comumente encontrados na região central do Estado de Goiás são os de *C. adamantium*. Um estudo realizado com polpas de frutos dessa espécie coletados nessa região, revelou teor de umidade elevado

(80,8%), baixo valor energético (49,1 kcal.100 g^{-1}) e valores consideráveis de macronutrientes, ácido ascórbico e fibras, resultado similar ao encontrado nas gabirobas da região Oeste do Estado de São Paulo, que apresentaram altos teores de umidade (75,9%), carboidratos (11,6%), proteínas (1,6%), fibra alimentar (9,0%) e, principalmente, ácido ascórbico (234 mg.100 g^{-1})[8,37]. Silva et al. (2008)[38] também demonstraram resultados compatíveis, ressaltando a ingestão do fruto como uma considerável fonte de nutrientes.

Além dos nutrientes e compostos inorgânicos encontrados, a polpa da gabiroba (*C. adamantium*) apresentou alto conteúdo de fenólicos (1222,59 mg GAE.100 g^{-1} FW) dentre eles, catequinas[12]. Malta et al. (2013)[39] também detectaram altos teores de flavonóides nos frutos da espécie *C. cambessedeana*, o que pode explicar suas potenciais atividades funcionais. Plantas de solos ácidos apresentam altos níveis de produção de metabólitos secundários, como os fenólicos, por isso observa-se alta concentração destes em frutos do Cerrado[38].

Foram identificados poucos estudos que caracterizassem quimicamente a parte residual do fruto, composta pela casca e semente. Nesses estudos, foram encontrados teores de lipídeos, proteínas, potássio, zinco, sódio, fibra alimentar, fenólicos totais e conteúdo energético consideravelmente maiores no resíduo comparados aos da polpa, indicando potencial atividade antioxidante da gabiroba e relevância do aproveitamento do resíduo deste fruto[8,12].

2.2 GERAÇÃO DE RESÍDUOS DE PUÇÁ E GABIROBA

O desperdício de alimentos e o excesso de resíduos gerados a partir de perdas durante o processamento são temas atuais de grande preocupação e mobilização mundial[16]. A *Food and Agriculture Organization of the United Nations* (FAO) demonstra que 1,3 bilhão de toneladas de alimentos são jogados fora por ano no mundo, onde o Brasil ocupa o décimo lugar no ranking mundial dos países que mais perdem alimentos[40]. As perdas de alimentos são causadas por diversos motivos, entre eles, as ineficiências nas cadeias de infraestrutura e logística, e também a falta de conhecimento ou de investimento em tecnologias[40,41]. Alimentos de origem vegetal, durante toda sua cadeia produtiva, podem apresentar perdas significativas nos processos de colheita tardia,

condições climáticas não favoráveis, armazenamento inadequado, falta de planejamento e a não utilização integral de frutos[42]. A perda de alimentos de origem vegetal impacta negativamente o planeta, devido à utilização em vão de recursos ambientais, tais como o solo, energia, água e insumos[40].

Uma grande quantidade de subprodutos é gerada diariamente pela indústria de processamento de alimentos. Estima-se que frutas inteiras processadas podem gerar subprodutos que compreendem até 90% dessas frutas, incluindo cascas, sementes e polpas[43]. A alta perecibilidade dos frutos contribui para a formação de resíduos e a sua deposição no meio ambiente, nas águas ou no solo geram impacto ambiental. Além disso, há perda de produto que ainda possui valor nutricional e econômico agregados. Com a crescente conscientização ambiental, diversos segmentos do mercado, órgãos governamentais, indústrias e pesquisadores visam soluções para a diminuição do impacto negativo da geração excessiva de resíduos[15].

Contextualizando a situação do Brasil em virtude das problemáticas citadas, a valorização e utilização sustentável de um bioma regional torna-se necessária. Nesse sentido, é importante ressaltar os frutos nativos do Cerrado que se destacam pelo seu potencial nutritivo, consumo *in natura* e potencial de utilização em diferentes preparações, sendo considerados matérias-primas para a elaboração de produtos alimentícios[44]. A utilização dos resíduos do processamento de frutos tem sido estudada e demonstrou resultados positivos quanto à redução do desperdício de alimentos. Os resíduos podem conter muitas substâncias de alto valor nutricional, como vitaminas, carotenóides, polifenóis e minerais que podem agregar benefícios à saúde humana, além de utilizar o alimento de forma integral, contribuindo para a sustentabilidade e redução da produção de resíduos orgânicos[45,46]. A maioria dos frutos do Cerrado frutificam durante dois terços do ano, no período compreendido entre os meses de agosto e março, quando ocorre maior consumo e aproveitamento agroindustrial desses frutos [47].

O resíduo de gabiroba, constituído de casca e sementes, foi utilizado como ingrediente enriquecido na elaboração de hambúrguer de tilápia, alterando a coloração do hambúrguer de tilápia, aumento no teor de umidade e de fibras, gerando um produto funcional, segundo legislação[48]. Já os resíduos de puçá ainda não foram utilizados para a elaboração de produtos na literatura, no

entanto, o fruto é bastante consumido *in natura*, e utilizado para a elaboração de doces, sorvetes e geleias, gerando um volume considerável de resíduo [7].

Assim, estes resíduos orgânicos devem ser estudados com o intuito de valorizar e estimular o seu aproveitamento integral. A literatura demonstra grande potencial de inserção desses frutos na alimentação humana e no desenvolvimento de produtos alimentícios em escala industrial[49]. Além disso, o consumo destes frutos, bem como sua exploração tecnológica, deve ser incentivado de forma sustentável a fim de valorizar as espécies nativas do Cerrado e reduzir o desperdício e o impacto ambiental.

2.3 PREBIÓTICOS

Os prebióticos são substratos não digeríveis usados como nutrientes para os micro-organismos presentes na microbiota intestinal. O efeito desses compostos pode se estender apenas a alguns grupos microbianos, e não a todos. Além desse critério para ser classificado como um prebiótico, um substrato não deve gerar consequências negativas para o hospedeiro, como a distensão abdominal por meio do excesso de produção de gás, ou o crescimento de micro-organismos patogênicos[20].

A associação entre prebióticos e benefícios à saúde tem sido documentada na literatura[50,51]. As bactérias intestinais desempenham um papel importante no metabolismo das fibras alimentares, uma vez que as enzimas humanas são incapazes de digerir completamente essas substâncias. Vários produtos intermediários e finais são formados no processo de fermentação, incluindo gases, ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), ácidos orgânicos, ácidos graxos de cadeia ramificada e outros produtos de proteólise[21]. Os principais AGCC gerados, como resultado de várias vias metabólicas bacterianas, são acetato, propionato e butirato[20]. Além de suas funções em vias de sinalização do hospedeiro, os AGCC são conhecidos por seus efeitos favoráveis sobre a imunidade, integridade das células epiteliais gastrointestinais, homeostase da glicose, metabolismo lipídico e regulação do apetite[52].

Carboidratos não digeríveis, tais como frutooligossacarídeos (FOS), inulina e galactooligossacarídeos (GOS) são reconhecidos como prebióticos na literatura[53]. GOS é derivado da lactose encontrada naturalmente no leite de

mamíferos e consiste em cadeias de monômeros de galactose[54]. Uma das fontes alimentares de GOS mais pesquisadas é o leite materno e este estimula o crescimento de bactérias benéficas, especialmente *Bifidobacterium*[55]. Já o FOS é composto por uma molécula de glicose seguida por duas ou mais moléculas de frutose ligadas por ligações β-2,1 ou β-2,6 e é uma fibra não é digerida no intestino delgado, mas metabolizada pela microbiota no ceco, produzindo AGCC, L-lactato e outras moléculas bioativas benéficas à saúde[56].

Outro carboidrato não digerível conhecido é a polidextrose, um polímero de glicose altamente ramificado, que possui em sua estrutura unidades aleatórias de glicose. Todas as combinações possíveis de ligações α e β podem ocorrer em sua molécula. Por ter uma estrutura complexa, esse carboidrato não é hidrolisado pelas enzimas digestivas dos mamíferos no intestino delgado, chegando intacto ao cólon, onde é fermentado pela microbiota intestinal[57]. Assim, estudos apontam a polidextrose como um possível prebiótico, visto que o seu consumo ocasiona benefícios para o hospedeiro[58,59].

Gibson et al. (2004)[21] descreveram que qualquer componente alimentar que atinge o cólon intacto apresenta um potencial prebiótico, porém, são necessários estudos mais aprofundados para a comprovação deste potencial. Sousa et al.[60] investigaram o potencial prebiótico da farinha de tubérculo de yacon a partir da determinação de números de células viáveis e atividade metabólica em quatro espécies probióticas (*Enterococcus faecium Bifidobacterium animalis*, *Lactobacillus acidophilus* e *Lactobacillus casei*) e observaram que o alimento revelou uma potencial atividade prebiótica no crescimento das culturas testadas, provavelmente devido ao seu elevado conteúdo de FOS. Por meio de metodologia semelhante, Sánchez-Zapata et al.[61] confirmaram a propriedade dos coprodutos líquidos do extrato de noz de tigre como fonte de carbono para o crescimento de bactérias probióticas.

A polpa branca e vermelha da Pitaya, com altas concentrações de glicose, frutose e alguns oligossacarídeos (concentrações totais de 86,2 e 89,6 g / kg, respectivamente) tiveram seu potencial prebiótico determinados a partir de simulação gastrointestinal *in vitro*. A polpa apresentou resistência à hidrólise pelo suco gástrico artificial e pela α-amilase humana, além de estimular o crescimento de *Lactobacillus delbrueckii* BCC 13296 e *Bifidobacterium bifidum* NCIMB 702715[62]. Resíduos de frutos como macaúba, jerivá e pedúnculo de caju

também já tiveram seu potencial prebiótico comprovado frente à diferentes cepas probióticas[19,63].

Diante do contexto verificou-se que a literatura abrange uma diversidade de alimentos e seus subprodutos que já tiveram seu potencial prebiótico testados e comprovados por metodologias *in vitro*, porém ressalta-se que ainda não foram encontrados dados sobre o possível potencial prebiótico de frutos nativos do Cerrado, assim como de suas porções não comestíveis (casca e semente).

2.4 MICRO-ORGANISMOS PROBIÓTICOS

O conceito de probióticos foi discutido e modificado por muitos anos, mas em 2001 a FAO e a Organização Mundial da Saúde (OMS) definiram probióticos como “micro-organismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas conferem um benefício à saúde do hospedeiro”[64]. Diversos probióticos têm sido estudados em humanos e animais[65]. Dentre estes, encontram-se bactérias pertencentes aos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium,* e em menor escala, *Enterococcus*, a levedura *Saccharomyces cerevisiae,* bem como alguns *Bacillus* spp. A influência das bactérias sobre a microbiota intestinal humana envolve fatores como a competição exclusiva com patógenos e micro-organismos indesejáveis, efeitos antagônicos e imunológicos, resultando no aumento da resistência corporal do indivíduo[66,67]. Existe a possibilidade, portanto, que o aumento da população de bactérias benéficas no intestino grosso pode, juntamente com outros fatores, como o estado imunológico, oferecer maior proteção ao hospedeiro[22].

As espécies probióticas pertencentes aos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* produzem ácidos lático e acético como principais produtos finais do metabolismo de carboidratos. Esses ácidos orgânicos podem diminuir o pH intestinal e impedir o crescimento de bactérias patogênicas[68,69].

2.4.1 *Lactobacillus*

O gênero *Lactobacillus* é composto por mais de 170 espécies e 17 subespécies que são analisadas em diversos estudos a partir de inúmeras metodologias. São encontrados em uma variedade de alimentos, desde frutas e vegetais a produtos fermentados[70–72]. Nos seres humanos, os *Lactobacillus* se

encontram no trato gastrointestinal, na cavidade oral e na microbiota vaginal, mas também podem ser patógenos oportunistas ocasionais. São bactérias caracterizadas como bacilos, Gram-positivas, de forma regular e não esporuladas, anaeróbias facultativas e fermentativas. No trato gastrointestinal humano, há uma variedade de espécies, sendo predominante *Lactobacillus casei*, encontrada e isolada no intestino[72].

L. casei é considerada uma espécie facultativamente heterofermentativa por fermentar hexoses em ácido-lático e produzir gás a partir de gliconato. Essa espécie também fermenta pentoses e produz ácidos lático e acético[73,74]. A espécie faz parte do "grupo *Lactobacillus casei*", composto principalmente pelas espécies *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei* e *Lactobacillus rhamnosus*[75]. Estas estão entre as espécies mais estudadas devido ao seu potencial comercial, industrial e de aplicação à saúde. São usadas comercialmente para fermentar produtos de laticínios, conferindo melhor sabor e textura aos alimentos produzidos. Também produzem muitos metabólitos bioativos que podem promover benefícios ao hospedeiro, sendo assim muitas culturas do "grupo *Lactobacillus casei*" podem ser consideradas probióticas[76]. A espécie *L. paracasei* foi caracterizada e isolada de fezes de recém-nascidos nativos de Taiwan. Essa cultura mostrou boa sobrevivência em pH baixo, tolerância a altas concentrações biliares e capacidade de reduzir o colesterol sérico *in vitro*[77]. Ainda neste grupo de bactérias, a espécie *L. rhamnosus* foi originalmente isolada de amostras fecais de um adulto humano saudável. Uma das principais características é sua forte capacidade adesiva, que foi documentada *in vitro* e *in vivo*. Em estudos de intervenção em humanos, também foi relatado que esta espécie persiste no intestino por mais tempo e em concentrações mais elevadas em comparação com outras espécies de *Lactobacillus*[78–80].

A espécie *L. acidophilus*, do grupo de espécies homofermentativas estritas, que não fermentam pentoses, é considerada Gram-positiva e cresce em temperaturas de 37 a 42 °C[81]. A espécie atinge suas maiores taxas de crescimento em meios levemente ácidos (pH 5,5 a 6,0) e o crescimento cessa abaixo de pH 4,0[82]. Produz ácido lático a partir da fermentação de carboidratos e está entre os *Lactobacillus* menos tolerantes ao oxigênio[83,84]. Além disso, *L. acidophilus* é capaz de utilizar uma variedade de fontes de carbono para o seu

crescimento, tem características probióticas, é usada comercialmente em muitos produtos lácteos e encontrada naturalmente no trato gastrointestinal humano[85,86].

Muito do conhecimento sobre o mecanismo de ação dos probióticos é baseado em pesquisas por meio de culturas probióticas em modelos *in vitro*[87]. Nesse sentido, considerando as características já documentadas de culturas de bactérias, como *Lactobacillus*, é possível considerá-las eficazes para metodologias de avaliação do potencial prebiótico de componentes alimentares *in vitro*.

2.4.2 Bifidobacterium animalis subsp. lactis

Bifidobacterium é um gênero de bactérias probióticas anaeróbicas, Gram-positivas e produtoras de ácido lático. As *Bifidobacterium* foram descobertas e isoladas em 1899, nas fezes de crianças em aleitamento materno[88]. São relevantes nos estudos sobre microbiota intestinal humana, por serem capazes de inibir bactérias patogênicas e consequentemente melhorar a função da barreira gastrointestinal do hospedeiro[89]. Estudos recentes demonstraram que algumas espécies de *Bifidobacterium* tem o potencial de controlar várias doenças intestinais como câncer e alergias, além de aumentar a proporção de bactérias benéficas da microbiota[90–92].

Dentre as diversas espécies de *Bifidobacterium* já isoladas, a *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB 12® (BB-12®) é a mais documentada na literatura científica. A espécie foi inicialmente isolada de uma cultura de laticínios da Chr. Hansen e especialmente selecionada para a produção de laticínios probióticos, tornando assim, marca registrada da Chr. Hansen A/S. A partir de então, BB-12® tem sido utilizada em fórmulas infantis, suplementos alimentares e produtos lácteos fermentados em todo o mundo. É uma cultura com boa atividade de fermentação, estabilidade e tolerância à ácidos biliares. Destaca-se por sobreviver e não alterar sabor e aparência dos alimentos em que é adicionada, sendo, portanto, tecnologicamente adequada para o desenvolvimento de produtos alimentícios probióticos[93,94].

BB-12® tem demonstrado seu efeito benéfico à saúde, tanto gastrointestinal quanto na função imunológica, em estudos com seres humanos. Podem interagir com o sistema imunológico de várias maneiras, por exemplo,

aumentando a produção sistêmica de anticorpos, a atividade das células imunes e modulando sinais nas células epiteliais[95].

Em estudo controlado por placebo, avaliou-se o efeito de um iogurte simbiótico contendo BB-12® e inulina. As amostras fecais foram coletadas de 46 voluntários e as alterações na microbiota foram monitoradas usando a reação em cadeia da polimerase em tempo real (PCR). BB-12® foi recuperada nas amostras fecais e pôde ser detectada nas fezes até duas semanas após a ingestão[96]. Diante disso, essa cultura probiótica pode ser uma boa aliada para a avaliação de efeitos prebióticos de componentes *in vitro*.

2.5 COMPOSTOS FENÓLICOS E A MICROBIOTA INTESTINAL

O metabolismo nas células das plantas, frutos e vegetais envolve um conjunto de reações químicas que suprem as necessidades do organismo vegetal. Essas reações visam o aproveitamento de nutrientes a fim de satisfazer as exigências essenciais para a sobrevivência das células[97]. Esse metabolismo é dividido em primário e secundário. O metabolismo primário é responsável pela síntese de celulose, lignina, proteínas, lipídeos e açúcares, enquanto o secundário produz os metabólitos que apresentam atividades biológicas como proteção contra a perda excessiva de água e irradiação UV, defesa contra predadores e micro-organismos e atração de insetos e aves para reprodução[98].

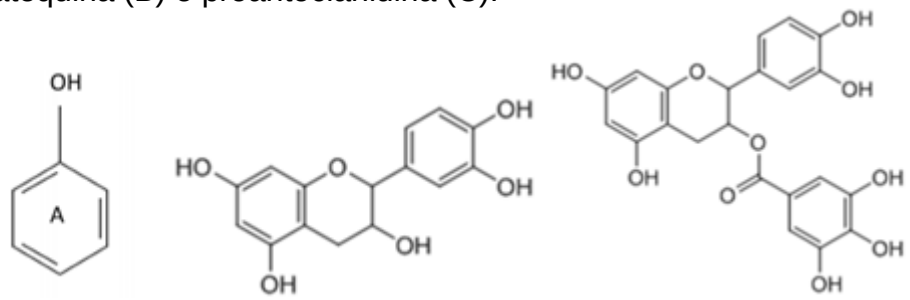
Os metabólitos secundários são divididos em três grandes grupos: compostos fenólicos, compostos terpênicos e alcalóides. A literatura concentra uma grande variedade de estudos sobre os compostos fenólicos, chamados também de polifenóis. Inicialmente, o interesse pelos polifenóis estava relacionado aos seus efeitos "antinutricionais" resultantes da capacidade desses compostos se ligarem a proteínas e minerais, diminuindo a digestibilidade e absorção dos nutrientes, porém os estudos se dedicam em demonstrar o efeito benéfico destes compostos na saúde humana[99].

Uma das propriedades atribuídas aos polifenóis é a sua elevada capacidade antioxidante. Exercem esse papel não apenas pela sua habilidade em doar hidrogênio ou elétrons, mas também pela presença de radicais intermediários estáveis, que impedem a oxidação de vários elementos do alimento, particularmente os ácidos graxos[100]. Ainda, evidências de estudos

clínicos sugerem que os polifenóis podem apresentar propriedades prebióticas[101,102]. Grande parte dos polifenóis presentes na alimentação não são absorvidos no intestino delgado e, portanto, chegam ao cólon, onde passam por uma extensa metabolização mediada pela microbiota[103].

Os polifenóis apresentam estrutura química complexa (Figura 3), possuem um ou mais anéis aromáticos hidroxilados, ou seja, ligados a um ou mais grupos hidroxila e geralmente estão presentes na forma glicosilada, ligada a uma estrutura polifenólica principal. Até hoje, mais de 10000 compostos diferentes já foram identificados e divididos em diversos grupos[104,105]. Com base na estrutura química e sua complexidade relacionada ao número de anéis aromáticos e substituintes, os polifenóis podem ser classificados em flavonoides e não flavonoides[106].

Figura 3. Estrutura química do fenol simples (A); Flavonoides encontrados em frutas: catequina (B) e proantocianidina (C).



(A) **(B)** **(C)**

Fonte: Adaptado de Singh et al., (2019); Santhakumara, Battino, Alvarez-Suarezv (2018).

Na dieta humana, os polifenóis mais abundantes são os flavonoides, grupo que apresenta seis subclasses: flavonóis, flavonas, isoflavonas, flavan-3-ols, flavanonas e antocianidinas[107]. Por apresentarem diversas propriedades funcionais, pesquisadores vem se dedicando a analisar e quantificar o conteúdo destes compostos em alimentos, principalmente frutos. No Brasil, foram compilados os dados encontrados na literatura, agrupados e adicionados à Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TBCA), na qual encontram-se diversos frutos nativos do bioma Cerrado, como Bacuri (*Scheelea phalerata* e Mauritia *flexuosa*), Cambuci (*Campomanesia phaea* e *Campomanesia phaea*) e Cagaita (*Eugenia dysenterica*)[108]. O conteúdo final de fenólicos presentes nas

frutas e hortaliças pode ser influenciado por diversos fatores, como a maturação, a espécie, as práticas de cultivo, a origem geográfica, o estágio de crescimento, as condições de colheita e o processo de armazenagem[2].

Os flavonóis são estruturalmente caracterizados pela presença de uma insaturação entre carbonos, um grupo hidroxila e um grupo cetona[109]. Fogaliano et al., (2011)[110] realizaram um modelo colônico humano *in vitro* com o cacau, rico em flavonóis, no qual foi observado um aumento significativo de *Bifidobacterium* e *Lactobacillus,* e produção de butirato após a sua fermentação, demonstrando assim benefícios associados à inclusão de alimentos ricos em flavonóis na dieta.

Ainda no grupo dos flavonóides, as antocianinas são compostos com estrutura contendo uma ou mais unidades de monossacarídeos, reconhecidas por serem responsáveis pela cor vermelha, azul e roxa de frutas e vegetais[111]. Estudos *in vitro* e *in vivo* sugerem um potencial efeito anti-inflamatório desses compostos associados à microbiota, em razão da modulação intestinal associada ao aumento das culturas de *Bifidobacterium*[112].

As catequinas, taninos condensados e as proantocianidinas são os compostos mais importantes da subclasse flavan-3-ol, que são facilmente extraídos em água e suas principais fontes alimentares são feijão, ervilha, tâmaras, uvas, nozes e bebidas como vinho e chá[104]. Mélo et al.[113] avaliaram os efeitos prebióticos *in vitro* de méis de abelhas da região semi-árida nordestina em relação aos probióticos *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* e observaram simultaneamente as alterações fenólicas em caldos com as amostras testadas. Os resultados encontrados sugeriram que o potencial prebiótico observado nos méis poderia estar relacionado à presença de compostos fenólicos, como catequinas, nas vias metabólicas dos probióticos avaliados.

Na classe dos não flavonoides, os ácidos fenólicos são os mais comuns na dieta humana. Apresentam máxima absorção no intestino delgado e podem ser produzidos a partir da degradação de proantocianidinas[114,115]. Xantonas, estilbenos, lignanas e taninos também pertencem à classe dos compostos fenólicos não flavonóides. São compostos com pelo menos dois anéis aromáticos na estrutura, enquanto apenas os taninos apresentam maior número de anéis. Os taninos são encontrados em leguminosas como feijão, frutas e

nozes[116]. Os taninos hidrolisáveis são divididos em duas subclasses: galotaninos e elagitaninos. Nos galotaninos, o ácido gálico é o ácido fenólico predominante, enquanto as elagitaninas são diferentes combinações de ácido gálico e ácido hexa-hidroxidifênico com glicose. Os estilbenos foram relatados na literatura como fenólicos não flavonóides presentes em uvas, amêndoas, feijões, mirtilos, amendoins, videira, cranberries, amoras, ameixa e vinho. Sua ingestão tem sido associada à diminuição do risco de hipertensão, diabetes e obesidade[116].

Evidências de estudos clínicos sugerem que os polifenóis são capazes de expressar propriedades prebióticas e exercer atividades antimicrobianas sobre os micro-organismos patogênicos presentes no intestino, por isso é importante uma dieta rica em alimentos fontes destes compostos[101]. Determinados compostos fenólicos também participam da modulação da microbiota intestinal com estimulação do crescimento de microrganismos probióticos e aumento da produção de AGCC, sendo a catequina um flavonóide que pode ser metabolizado pela microbiota intestinal, gerando os ácidos hidroxifenilacético e hidroxifenilpropiônico[117]. As catequinas também aumentaram o crescimento de *Bifidobacterium*, *Akermancia* e *Roseburia* em camundongos alimentados com uma dieta rica em gordura após o consumo de polifenóis do chá verde[118]. Procianidina B2 é um precursor de antocianina oligomérica amplamente encontrado em bagas e evidências recentes mostram que este composto fenólico tem efeito prebiótico na microbiota intestinal *in vivo*[119].

A interação entre os polifenóis e a microbiota intestinal é considerada mútua, ou seja, pode contribuir tanto com a saúde do hospedeiro a partir do potencial prebiótico, quanto na atividade biológica dos polifenóis, pois sabe-se que a microbiota é capaz de exercer um papel na funcionalidade destes compostos. Micro-organismos benéficos modulam mutuamente a atividade dos polifenóis, convertendo-os em substâncias menores e aumentando sua biodisponibilidade, tornando-os mais eficazes na saúde dos consumidores[120].

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o potencial prebiótico *in vitro* dos resíduos de puçá e da gabiroba.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a composição centesimal dos resíduos de puçá e da gabiroba;
- Analisar o teor de fibras alimentares totais, solúveis e insolúveis e açúcares dos resíduos dos frutos;
- Identificar o perfil de compostos fenólicos totais dos resíduos dos frutos;
- Avaliar o crescimento de bactérias probióticas (*Lactobacillus acidophilus* LA-05, *Lactobacillus casei* L-26 e *Bifidobacterium animalis* subsp. lactis BB-12) frente à utilização dos resíduos dos frutos;
- Determinar e comparar os escores de atividade prebiótica dos resíduos dos frutos.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO

O presente trabalho é um estudo experimental *in vitro* e faz parte de um estudo matriz denominado “Resíduos do processamento de frutos do cerrado: potencial nutricional, prebiótico e preventivo de doenças crônicas” da Universidade Federal de Goiás (UFG). As análises de composição centesimal e ensaios *in vitro* foram realizadas no Laboratório de Higiene e Controle Sanitário de Alimentos (LCHSA), Laboratório de Nutrição Experimental (LANUTE) e Laboratório de Nutrição e Análise de Alimentos (LANAL), da Faculdade de Nutrição (FANUT) da UFG.

4.2 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS

O critério de escolha dos frutos do Cerrado analisados foi o período de frutificação destes, com o intuito de obtê-los no estado de maturação adequado para consumo. Foram selecionadas áreas em que os frutos colhidos se encontravam livres da presença de agrotóxicos.

Os frutos de puçá foram colhidos maduros, no pico da colheita, em novembro de 2019, na área experimental da Escola de Agronomia, da Universidade Federal de Goiás (UFG), em Goiânia-GO. Estavam localizados nas coordenadas geográficas 16º 35'47'' de latitude sul e 49º 16'51'' de longitude oeste a 730 m de altitude e em seguida foram transportados para o Laboratório de Vegetais e Derivados da Escola de Agronomia localizado no prédio da Faculdade de Engenharia de Alimentos da UFG. Os frutos de gabiroba foram obtidos na unidade de processamento de frutos do Cerrado, na cidade de Piracanjuba, localizada na região sul de Goiás (17° 17′ 47″ de latitude sul e 49° 0′ 38″ de longitude oeste) durante o período da colheita, em dezembro de 2018. Frutos em estágio de decomposição foram descartados e os passíveis de serem utilizados nos experimentos foram lavados em água corrente e pesados (Elgin®, Sa-110, Brasil).

O puçá e a gabiroba foram despolpados em uma despolpadeira industrial de 0,25 DF (Bonina®, Itabuna, Brasil), com peneiras de 2,5 mm, a fim de separar

a polpa do resíduo (casca e semente). As amostras dos resíduos foram homogeneizadas, liofilizadas (Liotop®, L108, Brasil) e trituradas em um liquidificador industrial (Metvisa®, Itabuna, Brasil) até a obtenção de um pó fino. Após o processamento, as amostras foram acondicionadas a vácuo (Selovac®, Microvac, Brasil) em embalagens transparentes, separadas e armazenadas sob refrigeração até o momento da análise. Assim, foram obtidos os resíduos liofilizados de puçá (RP) e os resíduos liofilizados de gabiroba (RG) (Figura 4).

Figura 4. a) Fruto de *Mouriri elliptica* (Mart.); b) Resíduos (cascas e sementes) do puçá após despolpamento; c) Resíduo do puçá pós liofilização e processamento; d) amostras embaladas à vácuo e) resíduos de puçá e gabiroba liofilizados e processados, prontos para análise.

Fonte: própria autora, 2021.

4.3 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DOS RESÍDUOS

4.3.1 Composição centesimal

A composição centesimal dos RP e RG foi determinada por meio das análises de umidade, por secagem em estufa, nitrogênio total, segundo o método de micro-kjeldahl e conversão em proteína bruta, e cinzas. O teor de carboidratos totais foi estimado por diferença. A composição centesimal permitiu estimar o

valor energético das amostras, considerando-se os fatores de conversão de Atwater, de 4, 4 e 9 $kcal.g^{-1}$ para proteínas, carboidratos e lipídios, respectivamente[121].

4.3.2 Teor de fibras

Os teores de fibra alimentar total, insolúvel e solúvel dos resíduos liofilizados dos frutos foram determinados por meio do método enzimático-gravimétrico[121].

4.3.3 Perfil de fenólicos e açúcares

Extratos aquosos de RP e RG foram preparados para determinar o conteúdo de açúcares (maltose, glicose, ramnose e frutose) e ácidos orgânicos (cítrico, tartárico, málico, succínico, láctico, fórmico, acético e propiônico). Para a extração, 0,5 g de amostras foram diluídas em 10 mL de água ultrapura (Merck Milipore® Direct Q3, São Paulo, Brasil) a 50 ºC e homogeneizadas em homogeneizador de amostras digital por 5 min. A mistura foi centrifugada (3000 x g 5 min, 24 ºC) e o sobrenadante foi filtrado em membrana hidrofílica de poliamida com porosidade de 0,45 µm.

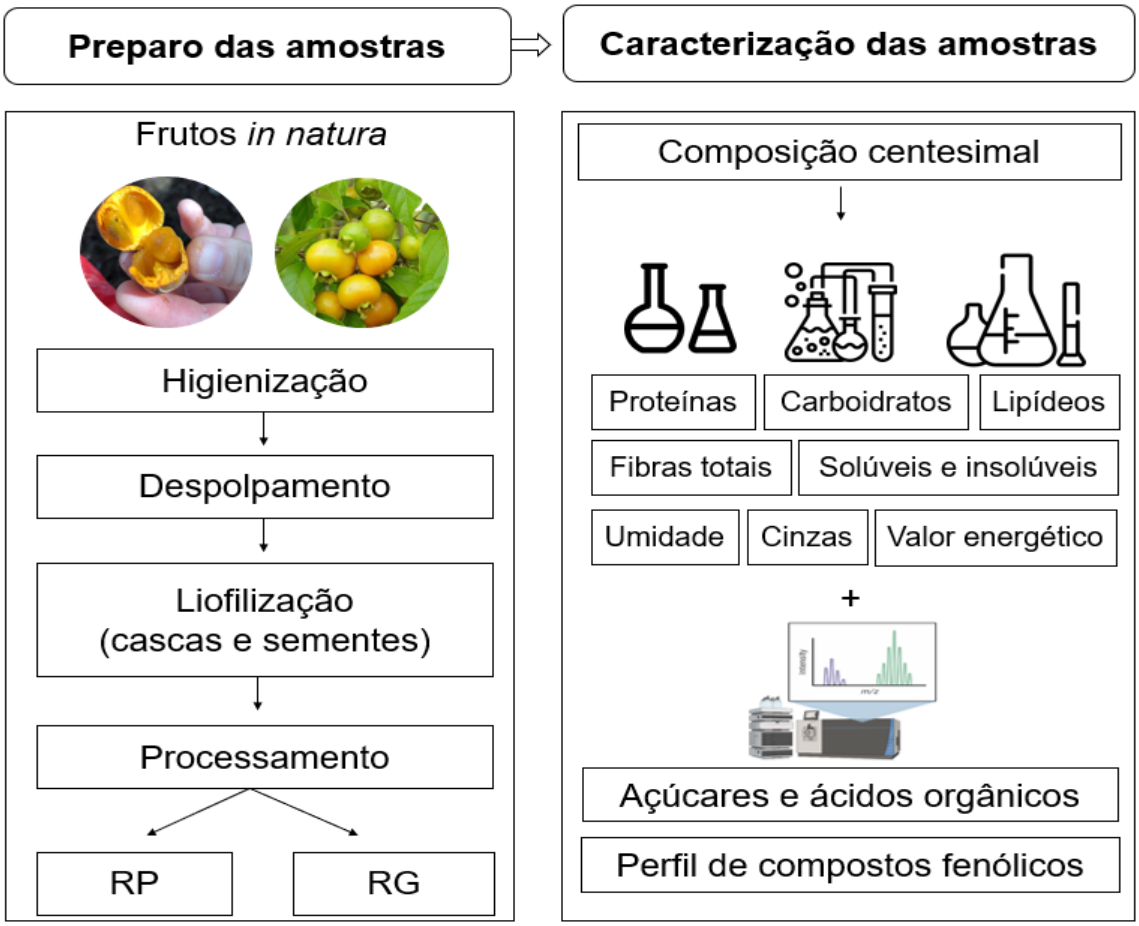
Extratos de metanol de RP e RG foram preparados para a determinação dos compostos fenólicos. 1 g das amostras foi adicionado em 5 mL de metanol 70% e homogeneizadas em ultrassom por 60 min. Em seguida as amostras foram centrifugadas (3000 x g 5 min, 24 ºC) e o sobrenadante foi filtrado (membrana hidrofílica de poliamida com porosidade de 0,45 µm).

Em seguida, a determinação dos açúcares, ácidos orgânicos e do perfil de fenólicos foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), segundo Albuquerque et al.[122] usando um cromatógrafo Agilent (modelo 1260 Infinity LC, Agilent Technologies, St. Clara, CA, EUA) equipado com um bomba de solvente quaternário (modelo G1311C), desgaseificador, compartimento de coluna termostática (modelo G1316A) e amostrador automático (modelo G1329B), acoplado a um detector de matriz de diodos (DAD) (modelo G1315D) e detector de índice de refração (RID) (Modelo G1362A). Os compostos foram separados por meio de uma coluna Agilent Hi Plex H (7,7 × 300 mm, 8 µ), fase móvel H_2SO_4 4 mM / l em água ultrapura e taxa de fluxo 0,7 ml / min. Os dados

foram processados usando o software OpenLAB CDS ChemStation Edition ™ (Agillent Technologies).

Os tempos de retenção e os picos dos cromatogramas das amostras foram identificados e comparados com padrões dos açúcares, ácidos orgânicos e fenólicos. A injeção foi realizada em duplicata e a quantificação dos teores de açúcares, ácidos e perfil de fenólicos foi feita por meio do cálculo das áreas médias dos picos (Figura 5).

Figura 5. Fluxograma das etapas de obtenção e caracterização das amostras



Fonte: própria autora, 2021.

4.4 ENSAIOS *IN VITRO*

4.4.1 Preparo do inóculo

Os ensaios *in vitro* foram realizados com três isolados probióticos conhecidos: *Lactobacillus acidophilus* LA-05, *Lactobacillus casei* L-26 e *Bifidobacterium animalis* subsp. lactis BB-12, provenientes da Colecção de Micro-organismos da Faculdade de Biotecnologia da Universidade Católica

Portuguesa (Porto, Portugal). As culturas de estoque foram mantidas em caldo Mann, Rogosa and Sharpe (MRS) (Kasvi, Espanha) com glicerol (Neon, Brasil) a -80 ºC. Antes dos ensaios, culturas de *L. acidophilus* e *L. casei* foram crescidas por três dias consecutivos em caldo MRS a 37 ºC durante 24 h em condições aeróbias. Para *B. animalis*, o caldo MRS foi suplementado com 0,5 $g.L^{-1}$ l-cisteína-HCl (Exodo, São Paulo, Brasil) em condições anaeróbias sob a mesma temperatura e tempo usados para *Lactobacillus*. A atmosfera anaeróbia foi gerada a partir de uma mistura composta por carbonato de cálcio, HCl e água, em jarra anaeróbia (Permution®, Brasil).

Culturas de *Escherichia coli* foram usadas para contagem de células viáveis a fim de determinar o escore de atividade prebiótica, descrita no item 4.4.5. *E. coli* ATCC 25922 e *E. coli* ATCC 8739, fornecidas pelo Laboratório de Higiene e Controle Sanitário de Alimentos da Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Goiás e Laboratório de Biotecnologia e Micro-organismos (LBMic) da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Goiás (Goiânia, Brasil), foram mantidas em Brain Heart Infusion (BHI) (Kasvi, Espanha) a 37 ºC por 18-20 h em condições aeróbias. As diferentes culturas de *E. coli* foram utilizadas em conjunto como uma mistura entérica em proporção de 1: 1. A densidade óptica (DO) de cada micro-organismo foi padronizada em espectrofotômetro (Jasco, EUA) a 655 nm de absorbância, aproximadamente 0,8 para as bactérias probióticas e 0,1 para as entéricas.

4.4.2 Meio de cultivo bacteriano

O processo de fermentação foi realizado de acordo com a metodologia de Albuquerque et al.[122], com adaptações. Para as análises experimentais, o caldo MRS com fonte de carbono modificada foi preparado e utilizado como meio basal para avaliar o crescimento bacteriano dos probióticos e a atividade metabólica em cada amostra. O meio preparado continha: triptona (Kasvi, Espanha) 10 $g.L^{-1}$, extrato de carne (Kasvi, Espanha) 8 $g.L^{-1}$, extrato de levedura (Kasvi, Espanha) 4 $g.L^{-1}$, hidrogenofosfato de di-potássio (Néon , Brasil) 2 $g.L^{-1}$, tween 80 (Neon, Brasil) 1 $g.L^{-1}$, acetato de sódio (Neon, Brasil) 5 $g.L^{-1}$, citrato de amônio tribásico (Sigma-Aldrich) 2 $g.L^{-1}$, sulfato de magnésio (Neon, Brasil) 0,2 $g.L^{-1}$, sulfato de manganês (Neon, Brasil) 0,04 $g.L^{-1}$ e sua respectiva fonte de carbono (RP ou RG) 20 $g.L^{-1}$.

Para monitorar o crescimento das bactérias probióticas, três meios de cultura também foram preparados com glicose (Neon, Brasil), como controle não prebiótico, frutooligossacarídeos (Orafti, Bélgica) (FOS) como controle prebiótico positivo[20], e sem adição de fonte de carbono como controle negativo. A concentração de cada fonte de carbono foi de 20 $g.L^{-1}$, conforme o caldo comercial padrão MRS. Antes da inoculação dos micro-organismos no meio, cada meio com sua respectiva fonte de carbono foi colocado em banho ultrassônico (Unique, Indaiatuba, Brasil) por 60 min para auxiliar na dissolução completa das partículas.

Após preparo dos caldos, distribuição em tubos de 10 mL e esterilização em tubos (10 mL), os micro-organismos probióticos foram inoculados (200 µL) separadamente em cada caldo de cultivo específico. Os tubos foram homogeneizados e incubados a 37 ºC por 24 h em condições aeróbias, para *L. acidophilus* e *L. casei* e anaeróbicas para *B. animalis*.

4.4.3 Contagem de células viáveis probióticas

Para a contagem de células viáveis, o ágar MRS foi preparado de forma semelhante ao caldo, mas adicionado com ágar bacteriológico (Kasvi, Espanha) e suplementado com 0,5 $g.L^{-1}$ l-cisteína-HCl para o crescimento de *B. animalis*. Os tubos com 10 mL de cada meio e 200 µL de cada inóculo foram homogeneizados em vórtex por 10 s e 100 µL de cada tubo foram diluídos em série em solução salina estéril (8,5 $g.L^{-1}$). Posteriormente, alíquotas de 20 µL de cada diluição foram semeadas em ágar MRS pela técnica de microgota em cada intervalo de tempo (tempo zero, imediatamente após a inoculação e homogeneização, após 12, 18, 24 e 48 h de incubação). As placas foram incubadas a 37 ° C por 48 h e as células viáveis foram contadas (log $UFC.mL^{-1}$).

4.4.4 Avaliação da atividade metabólica bacteriana

Foram realizados pré-testes onde observou-se que os substratos analisados não apresentaram atividade antimicrobiana. Posteriormente, para avaliar a atividade metabólica bacteriana, foram analisados os valores de pH em meios de cultivo sob diferentes tempos de incubação (0, 12, 18, 24 e 48 h). Os valores de pH foram medidos com um medidor de pH digital (Adwa®, AD1000, Hungria).

4.4.5 Determinação do escore de atividade prebiótica

O escore de atividade prebiótica (EAP) reflete quantitativamente a habilidade dos substratos em promover o crescimento de micro-organismos específicos na presença de competidores da microbiota, como *E. coli*, e em relação ao crescimento em substratos não prebióticos, como a glicose. Os escores foram calculados para cada micro-organismo probiótico em cada substrato testado. Nos ensaios de EAP o caldo M9 (Sigma-Aldrich) foi utilizado como meio basal com RP, RG, glicose e FOS (20 $g.L^{-1}$). Antes da inoculação da mistura entérica, cada meio com sua respectiva fonte de carbono foi colocado em banho ultrassônico (Unique, Indaiatuba, Brasil) por 60 min. 100 µL da mistura entérica foram adicionados em 10 mL de cada tubo e homogeneizados. 100 µL da mistura foram diluídos em série em solução salina estéril (8,5 $g.L^{-1}$). Posteriormente, alíquotas de 20 µl de cada diluição foram semeadas em ágar Eosin Methylene Blue (EMB) (Kasvi, Espanha) pela técnica de microgota no tempo inicial (0 h) e após 48 h. As placas foram incubadas a 37 ºC por 48 h. As células viáveis da mistura entérica foram contadas (log $UFC.mL^{-1}$) e utilizadas como denominador da fórmula, enquanto as células viáveis probióticas contadas no meio contendo glicose com *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, em 0 e 48 h (descrito na seção 4.3.3) foram utilizadas no numerador da fórmula, previamente descrito por Huebner et al.[123]:

Figura 6. Equação para determinação do escore de atividade prebiótica dos resíduos de puçá e gabiroba.

$$EAP = \left(\frac{\text{PRO em PRE (48 h)} - \text{PRO em PRE (0 h)}}{\text{PRO em GLI (48 h)} - \text{PRO em GLI (0 h)}} \right) - \left(\frac{\text{ME em PRE (48 h)} - \text{ME em PRE (0 h)}}{\text{ME em GLI (48 h)} - \text{ME em GLI (0 h)}} \right)$$

EAP: Escore de atividade prebiótica; PRO em PRE: contagem de células (log $UFC.mL^{-1}$) do micro-organismo probiótico (*L. acidophilus* ou *L. casei* ou *B. animalis*) em meio de cultivo contendo resíduo de puçá ou de gabiroba ou FOS; PRO em GLI: contagem de células (log $UFC.mL^{-1}$) do micro-organismo probiótico (*L. acidophilus* ou *L. casei* ou *B. animalis*) em meio de cultivo contendo glicose; ME em PRE: contagem de células (log $UFC.mL^{-1}$) da mistura entérica (*E. coli* ATCC 25922 e *E. coli* ATCC 8739) em meio de cultivo contendo resíduo de puçá ou de gabiroba ou FOS; ME em GLI: contagem de células (log $UFC.mL^{-1}$) da mistura entérica (*E. coli* ATCC 25922 e *E. coli* ATCC 8739) em meio de cultivo contendo glicose.

4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os parâmetros físico-químicos foram avaliados em triplicata para RP e RG e os resultados foram expressos como média ± desvio padrão. Os ensaios *in vitro* foram realizados em duplicata, em três experimentos diferentes. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) seguida do teste de Tukey, e as diferenças foram consideradas significativas quando $p \leq 0,05$. O software utilizado para as análises foi o RStudio versão 2.15 (R Core Team, Viena, Áustria).

REFERÊNCIAS

1. Bailão EFLC, Devilla IA, Conceição EC, Borges LL. Bioactive compounds found in brazilian Cerrado fruits. Int J Mol Sci. 2015;16(1):23760-83.

2. Clerici MTPS, Carvalho-silva LB. Nutritional bioactive compounds and technological aspects of minor fruits grown in Brazil. Food Res Int. 2011;44(7):1658-70.

3. Oliveira VB, Yamada LT, Fagg CW, Brandão MGL. Native foods from Brazilian biodiversity as a source of bioactive compounds. Food Res Int. 2012;48(1):170-9.

4. Souza VR, Pereira PAP, Queiroz F, Borges SV, Carneiro JDS. Determination of bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition of Cerrado Brazilian fruits. Food Chem. 2012;134(1):381-6.

5. Silveira MRS. Qualidade e atividade antioxidante de frutos de genótipos de puçazeiro 'Coroa de Frade' (*Mouriri elliptica* Mart.) da vegetação litorânea do Ceará [dissertação]. Ceará (CE): Universidade Federal do Ceará; 2007.

6. Rufino MM, Alves RE, Brito ES, Silveira MRS, Moura CFH. Quality for fresh consumption and processing of some non-traditional tropical fruits from Brazil. Fruits. 2009;64(6):361-70.

7. Rufino MM, Alves RE, Brito ES, Silveira MRS, Pérez-Jiménez J, Saura-Calixto F, Mancini-Filho J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. Food Chem. 2010;121(4):996–1002.

8. Alves AM, Alves MSO, Fernandes TO, Naves RV, Naves MMV. Caracterização física e química, fenólicos totais e atividade antioxidante da polpa e resíduo de gabiroba. Rev Bras Frut. 2013;35(3):837-44.

9. Morzelle MC, Bachiega P, Souza ECD, Vilas-Boas EVDB, Lamounier ML. Caracterização química e física de frutos de curriola, gabiroba e murici provenientes do cerrado brasileiro. Rev Bras Fruti. 2015;37(1):96-103.

10. Candido TLN, Freitas JB, Silva MR. Efeito da adição de xarope de glicose nas propriedades físico-químicas e aceitabilidade do doce de gabiroba. Nutrire. 2009;32(2):1-10.

11. Babbar N, Oberoi HS, Uppal DS, Patil RT. Total phenolic content and antioxidant capacity of extracts obtained from six important fruit residues. Food Res Int. 2011;44(1):391-6.

12. Alves AM, Dias T, Hassimotto NMA, Naves MMV. Ascorbic acid and phenolic contents, antioxidant capacity and flavonoids composition of Brazilian Savannah native fruits. Food Sci Tech. 2017;37(4):564-9.

13. Araújo ACMA, Menezes EGT, Terra AWC, Dias BO, Oliveira, ERD, Queiroz F. Bioactive compounds and chemical composition of Brazilian Cerrado fruits' wastes: pequi almonds, murici, and sweet passionfruit seeds. Food Sci Tech. 2018;1(38):203-14.

14. Laitinen K, Gueimonde M. Microbiota, food, and health. Int J Mol Sci. 2019;20(24):1-3.

15. Pelizer LH, Pontieri MH, Moraes IO. Utilização de resíduos agroindustriais em processos biotecnológicos como perspectiva de redução do impacto ambiental. Int J Innov Technol. 2007;2(1):118-27.

16. Majerska J, Michalska A, Figiel A. A review of new directions in managing fruit and vegetable processing by-products. Trends Food Sci Technol. 2019;88(1):207-19.

17. Viscardi DZ, Oliveira VSD, Arrigo JDS, Piccinelli AC, Cardoso CA, Maldonade IR, Sanjinez-Argandoña EJ. Anti-inflammatory, and antinociceptive effects of *Campomanesia adamantium* microencapsulated pulp. Rev Bras Farmacogn. 2017;27(2):220-7.

18. Barros HRM, Ferreira TAPC, Genovese MI. Antioxidant capacity and mineral content of pulp and peel from commercial cultivars of citrus from Brazil. Food Chem. 2012;134(4):1892-8.

19. Andrade AC, Marinho JFU, de Souza AC, et al. Prebiotic potential of pulp and kernel cake from Jerivá (*Syagrus romanzoffiana*) and Macaúba palm fruits (*Acrocomia aculeata*). Food Res Int. 2020;136(1):1-9.

20. Gibson GR, Hutkins R, Sanders ME, Prescott SL, Reimer RA, Salminen SJ, et al. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. Nat Rev Gastroenterol Hepatol. 2017;14(8):491-502.

21. Gibson GR, Probert HM, Van Loo JAE, Roberfroid MB. Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. Nutr Res Rev. 2004;17(2):257-9.

22. Al-Sheraji SH, Ismaila A, Manapd MY, Mustafac S, Yousofa RM, Hassan FA. Prebiotics as functional foods: A review. J Funct. Food, 2013;5(4):1542-53.

23. Gullón, Beatriz, et al. "Structural features and assessment of prebiotic activity of refined arabinoxylooligosaccharides from wheat bran." J Funct Food, 2014(1): 438-449.

24. Fijan S. Microorganisms with claimed probiotic properties: An overview of recent literature. Int J Environ Res Public Health. 2014;11(1):4745-67.

25. Dalponte JC, Lima ES. Fruit availability and the diet of Lycalopex vetulus (*Carnivora-Canidae*) in a Cerrado vegetation of Mato Grosso, Brazil J Bot. 1999;22(1):325-32.

26. Lima LR, Neto AR, Pereira FD, Silva FG, Menezes CCE, Santana JG. Germination and emergence of *Mouriri elliptica* Mart., a rare medicinal fruit tree native to the brazilian cerrado biome. Afr J Agric Res. 2016;11(5): 400-6.

27. Moleiro FC, Andreo MA, Santos RDC, Moraes TM, Rodrigues CM, Andrade Carli CB, Hiruma-Lima CA. *Mouriri elliptica*: validation of gastroprotective, healing and anti-*Helicobacter pylori* effects. J Ethnopharmacol. 2009;123(3):359-68.

28. Sato STA, Ribeiro SCA, Sato MK, Souza JNS. Caracterização física e físico-química de pitayas vermelhas (*Hylocereus costaricensis*) produzidas em três municípios paraenses. J Bioenergy Food Sci. 2014;1(2):58-70.

29. Chiste RC, Faria LJG, Lopes AS, Mattietto RA. Características físicas e físico-química da casca de mangostão em três períodos da safra. Rev Bras Frutic. 2009;31(2):416-22.

30. Rodrigues LS, Alves RE. Avaliação da composição físico-química de frutos de mandacaru (*Cereus jamacaru* P.). Acta Agronômica. 2009;58(4):245-50.

31. Silva TLL, Silva JS, Vieira ECS, Silva MMM, Becker FSEP, Damiani C. Parâmetros físico-químicos de qualidade de casca, polpa e semente de croada (*Mouriri Elliptica*). 2015: Congresso Brasileiro de Processamento mínimo e Pós-colheita de frutas, flores e hortaliças. Anais. Aracaju-SE.

32. Rajwar A, Srivastava P, Sahgal M. Microbiology of fresh produce: route of contamination, detection methods, and remedy. Crit Rev Food Sci Nutr. 2016;56(14):2383-90.

33. Suryawanshi P. Food Biochemistry & Food Processing. 2012.

34. Bonacorsi C, Fonseca LM, Raddi MSG, Kitagawa RR, Vilegas W. Comparison of Brazilian plants used to treat gastritis on the oxidative burst of *Helicobacter pylori*-stimulated neutrophil. Evid.-Based Complementary Altern. Med. 2013;2013(1):1-8.

35. Vasconcelos JM, Cardoso TV, Sales JDF, Silva FG, Vasconcelos Filho SC, Santana JDG. Métodos de superação de dormência em sementes de croada (*Mouriri elliptica* Mart). Ciênc Agrotec. 2010;*34*(5):1199-204.

36. Silva EP, Vilas Boas EVB, Rodrigues LJ, Siqueira HH. Caracterização física, química e fisiológica de gabiroba (*Campomanesia pubescens*) durante o desenvolvimento. Ciênc Tecnol Aliment. 2009;29(4):803-9.

37. Vallilo MI, Lamardo LCA, GaberlottI ML, Oliveira E, Moreno PRH. Composição química dos frutos de *Campomanesia adamantium* (Cambessédes) O.Berg. Ciênc Tecnol Aliment, 2006;26(4):805-10.

38. Silva MR, Lacerda DBCL, Santos GG, Martins DMO. Caracterização química de frutos nativos do cerrado. Ciênc Rural. 2008;38(6):1790-3.

39. Malta LG, Tessaro EP, Eberlin M, Pastore GM, Liu RH. Assessment of antioxidant and antiproliferative activities and the identification of phenolic compounds of exotic Brazilian fruits. Food Res Int. 2013;53(1):417-25.

40. FAO, Food and Agriculture Organizations. Food wastage Footprint impacts on Natural Resources. 2013. Disponível em: <http://www.fao.org/docrep/018/i3347e/i3347e.pdf> Acesso em: 09 de abr. 2020.

41. Godfray HCJ, Beddington JR, Crute IR, Haddad L, Lawrence D, Muir JF, et al. Food security: the challenge of feeding 9 billion people. Science. 2010;*327*(5967):812-8.

42. Lana MM, Moita AW. Visual quality and waste of fresh vegetables and herbs in a typical retail market in Brazil. Horticultura Brasileira. 2019;37(2):161-71.

43. Ayala-Zavala JF, et al. Agro-industrial potential of exotic fruit byproducts as a source of food additives. Food Res Int. 2011;44(1):1866–74.

44. Rocha LS, Santiago RDC. Implicações nutricionais e sensoriais da polpa e casca de baru (*Dipterix Alata vog*.) na elaboração de pães. Food Sci Technol. 2009;29(4):820-5.

45. Sancho, SDO et al. Characterization of the Industrial Residues of Seven Fruits and Prospection of Their Potential Application as Food Supplements. J Chem. 2015;2015(2):1-8.

46. Tang YY, et al. Polyphenols and alkaloids in byproducts of longan fruits (Dimocarpus Longan Lour.) and their bioactivities. Molecules, 2019;24(6):1-19.

47. Oliveira SB, Oliveira GDS, Matos JMDM, Benevides NPSN, Catellanos AHA, Junqueira AMR. Extrativismo sustentável no Cerrado: oportunidade de diversificação de atividade e geração de renda para o produtor familiar. Cadernos de Agroecologia. 2018;13(1):1-25.

48. Cristofel CJ. Elaboração de hambúrguer de tilápia (*Oreochromis Niloticus*) enriquecido com ingrediente funcional e resíduo de guabiroba (*Campomanesia Xanthocarpa*): Características físicas, químicas e sensoriais. [dissertação]. Universidade Federal da Fronteira Sul, 2014.

49. Caetano, P. K., Daiuto, É. R., & Vieites, R. L. Característica físico-química e sensorial de geleia elaborada com polpa e suco de acerola. Braz J Food Technol. 2012;15(3):191-97.

50. Carlson JL, Erickson JM, Hess JM, Gould TJ, Slavin JL. Prebiotic dietary fiber and gut health: comparing the *in vitro* fermentations of beta-glucan, inulin and xylooligosaccharide. Nutrients. 2017;9(12):1-17.

51. Fehlbaum S, Prudence K, Kieboom J, Heerikhuisen M, Van den Broek T, Schuren FH, et al. *In vitro* fermentation of selected prebiotics and their effects on the composition and activity of the adult gut microbiota. Int J Mol Sci. 2018;19(10):1-16.

52. Bhattacharya T, Ghosh TS, Mande SS. Global profiling of carbohydrate active enzymes in human gut microbiome. PloS one. 2015;10(11):1-20.

53. So D, Whelan K, Rossi M, Morrison M, Holtmann G, Kelly JT, Shanahan ER, Staudacher HM, Campbell KL. Dietary fiber intervention on gut microbiota composition in healthy adults: a systematic review and meta-analysis. Am J Clin Nutr. 2018;107(6):965-83.

54. Roberfroid MB. Introducing inulin-type fructans. Br J Nutr. 2005;93(1):13-25.

55. Elison E, Vigsnaes LK, Krogsgaard LR, Rasmussen J, Sørensen N, McConnell B, Bytzer P. Oral supplementation of healthy adults with 2′-O-fucosyllactose and lacto-N-neotetraose is well tolerated and shifts the intestinal microbiota. Br J Nutr. 2016;116(8):1356-68.

56. Hutkins RW, Krumbeck JA, Bindels LB, Cani PD, Fahey Jr G, Goh YJ, Sanders ME. Prebiotics: Why definitions matter. Curr Opin Biotechnol. 2016;37(1):1-7.

57. Lahtinen SJ, Knoblock K, Drakoularakou A, Jacob M, Stowell J, Gibson GR, Ouwehand AC. Effect of molecule branching and glycosidic linkage on the degradation of polydextrose by gut microbiota. Biosci Biotechnol Biochem. 2010;74(1):2016-21.

58. Hooda S, Boler BMV, Serao MCR, Brulc JM, Staeger MA, Boileau TW. 454 pyrosequencing reveals a shift in fecal microbiota of healthy adult men consuming polydextrose or soluble corn fiber. J Nutr. 2012;142(7):1259-65.

59. Carmo MMR, Sarmento UC, Cavalheiro LF, Fernandes A, Filiú WFDO, Gielow KDCF, et al. Intake of polydextrose alters hematology and the profile of short chain fatty acids in partially gastrectomized rats. Nutrients. 2018;10(6):1-22.

60. Sousa S, Pinto J, Pereira C, Xavier Malcata F, Bertoldo Pacheco MT, Gomes AM, Pintado M. *In vitro* evaluation of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) tuber flour prebiotic potential. Food Bioprod Process. 2015;95(1):96-105.

61. Sánchez-Zapata E, Fernández-López J, Pérez-Alvarez JA, Soares J, Sousa S, Gomes AMP, Pintado MME. *In vitro* evaluation of “horchata” co-products as carbon source for probiotic bacteria growth. Food Bioprod Process. 2013;91(3):279–86.

62. Wichienchot S, Jatupornpipat M, Rastall RA. Oligosaccharides of pitaya (dragon fruit) flesh and their prebiotic properties. Food Chem. 2010;120(3):850–7.

63. Duarte FND, Rodrigues JB, Lima MC, Lima MDS, Pacheco MTB, Pintado MME, Souza EL. Potential prebiotic properties of cashew apple (*Anacardium occidentale* L.) agro-industrial byproduct on *Lactobacillus* species. J Sci Food Agric. 2017;97(11):3712-19.

64. Food and Agriculture Organization; Word Health Organization - FAO/WHO. Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Report of a joint FAO/WHO working group on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food. Rome, 2002.

65. Liu Z, Lin X, Huang G, Zhang W, Rao PNL. Prebiotic effects of almonds and almond skins on intestinal microbiota in healthy adult humans. Anaerobe. 2014;26(1):1-6.

66. Charalampopoulos D, Wang R, Pandiella SS, Webb C. Application of cereals and cereal components in functional foods: a review. Int J Food Microbiol. 2002;79(1-2):131-141.

67. Saad SMI. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. Rev Bras Ciênc Farm. 2006;42(1):1-16.

68. Mujagic Z, De Vos P, Boekschoten MV, Govers C, Pieters HJH, De Wit NJ, Troost FJ. The effects of *Lactobacillus plantarum* on small intestinal barrier function and mucosal gene transcription; a randomized double-blind placebo-controlled trial. Sci Rep. 2017;7(1):1-11.

69. Ng SC, Plamondon S, Kamm MA, Hart AL, Al-Hassi HO, Guenther T, et al. Immunosuppressive effects via human intestinal dendritic cells of probiotic bacteria and steroids in the treatment of acute ulcerative colitis. Inflamm Bowel Dis. 2010;16(8):1286-98.

70. Owusu-Kwarteng J, Tano-Debrah K, Akabanda F, Jespersen L. Technological properties and probiotic potential of *Lactobacillus fermentum* strains isolated from West African fermented millet dough. BMC Microbiol. 2015;15(1):1-10.

71. Savino MJ, Sánchez LA, Saguir FM, Nadra MCM. Lactic acid bacteria isolated from apples are able to catabolise arginine. World J Microb Biot. 2012;28(3):1003-12.

72. Goldstein EJ, Tyrrell KL, Citron DM. *Lactobacillus* species: taxonomic complexity and controversial susceptibilities. Clin Infect Dis. 2015;60(2):98-107.

73. Axelsson L. Lactic acid bacteria: classification and physiology. Food Sci Tech. 2004;*139*(1):1-66.

74. Holzapfel WH, Haberer P, Geisen R, Björkroth J, Schillinger U. Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. Am J Clin Nutr. 2001;73(2):365-73.

75. Hill D, Sugrue I, Tobin C, Hill C, Stanton C, Ross RP. The *Lactobacillus casei* group: history and health related applications. Front. microbiol. 2018;9(1):1-12.

76. Dietrich CG, Kottmann T, Alavi M. Commercially available probiotic drinks containing *Lactobacillus casei* DN-114001 reduce antibiotic-associated diarrhea. World J Gastroentero. 2014;20(42):15837-44.

77. Pan T, Chiu C, Gun Y. Characterization of *Lactobacillus* isolates from pickled vegetables for use as dietary or pickle adjuncts. Foods & Food Ingredients Journal of Japan. 2002;206(1):45-51.

78. Doron S, Snydman DR, Gorbach SL. *Lactobacillus* GG: bacteriology and clinical applications. Gastro Clin. 2005;34(3):483-98.

79. Kankainen M, Paulin L, Tynkkynen S, Von Ossowski I, Reunanen J, Partanen, et al. Comparative genomic analysis of *Lactobacillus rhamnosus* GG reveals pili containing a human-mucus binding protein. Proceed Nat Acad Sci. 2009;106(40):17193-98.

80. Segers ME, Lebeer S. Towards a better understanding of *Lactobacillus rhamnosus* GG - host interactions. Microb Cell Fact. 2014;13(1):1-16.

81. Altermann E, Russell WM, Azcarate-Peril MA, Barrangou R, Buck BL, McAuliffe O, Lick S. Complete genome sequence of the probiotic lactic acid bacterium *Lactobacillus acidophilus* NCFM. Proceed Nat Acad Sci. 2005;102(11):3906-12.

82. Shah NP. Functional cultures and health benefits. Int. Dairy J. 2007;17(11):1262-77.

83. Archibald FS, Fridovich I. Manganese, superoxide dismutase, and oxygen tolerance in some lactic acid bacteria. J Bacteriol. 1981;146(3):928-36.

84. Claesson MJ, Van Sinderen D, O'toole PW. The genus *Lactobacillus* - a genomic basis for understanding its diversity. FEMS Microbiol Lett. 2007;269(1):22-8.

85. Sanders ME, Klaenhammer TR. Invited review: the scientific basis of *Lactobacillus acidophilus* NCFM functionality as a probiotic. J Dairy Sci. 2001;84(2):319-31.

86. Yeung PSM, Kitts CL, Cano R, Tong PS, Sanders ME. Application of genotypic and phenotypic analyses to commercial probiotic strain identity and relatedness. J Appl Microbiol. 2004;97(5):1095-104.

87. Sanders ME, Merenstein DJ, Reid G, Gibson GR, Rastall RA. Probiotics and prebiotics in intestinal health and disease: from biology to the clinic. Nat Rev Gastro Hepat. 2019;16(10):605-16.

88. Reuter G. The *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* microflora of the human intestine: composition and succession. Current Iss Intestinal Microb. 2011;2(2):43-53.

89. Xue L, He J, Gao N, Lu X, Li M, Wu X. et al. Probiotics may delay the progression of nonalcoholic fatty liver disease by restoring the gut microbiota structure and improving intestinal endotoxemia. Sci Rep. 2017;7(1):45176.

90. Persson EK, Scott CL, Mowat AM, Agace WW. Dendritic cell subsets in the intestinal lamina propria: ontogeny and function. Eur J Immunol. 2013;43(12):3098-107.

91. Fu L, Song J, Wang C, Fu S, Wang Y. *Bifidobacterium infantis* potentially alleviates shrimp tropomyosin-induced allergy by tolerogenic dendritic cell-dependent induction of regulatory T cells and alterations in gut microbiota. Front Immunol. 2017;8(1):1-14.

92. Srutkova D, Schwarzer M, Hudcovic T, Zakostelska Z, Drab V, Spanova A, et al. *Bifidobacterium longum* CCM 7952 promotes epithelial barrier function and prevents acute DSS-induced colitis in strictly strain-specific manner. PLoS One. 2015;10(7):1-20.

93. Scourboutakos M. 1+ 1= 3… Synbiotics: Combining the Power of pre-and probiotics. J Food Sci Educat. 2010;9(1):36-7.

94. Belenguer A, Duncan SH, Calder AG, Holtrop G, Louis P, Lobley GE, Flint HJ. Two routes of metabolic cross-feeding between Bifidobacterium adolescentis and butyrate-producing anaerobes from the human gut. Appl Environ Microbiol. 2006;72(5):3593-9.

95. Rizzardini G, Eskesen D, Calder PC, Capetti A, Jespersen L, Clerici M. Evaluation of the immune benefits of two probiotic strains *Bifidobacterium animalis* ssp. lactis, BB-12® and *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*, *L. casei* 431® in an influenza vaccination model: a randomised, double-blind, placebo-controlled study. Br J Nutr. 2012;107(6): 876-84.

96. Palaria, Amrita, Ivy Johnson-Kanda, and Daniel J. O'Sullivan. Effect of a symbiotic yogurt on levels of fecal bifidobacteria, clostridia, and enterobacteria. Appl Environ Microbiol. 2012;78(4):933-40.

97. Pereira RJ, Cardoso MG. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. J Biotech Biod. 2012;3(4):146-52.

98. Simões CMO, Schenkel EP, Gosman G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR. Farmacognosia: da planta ao medicamento. Florianópolia. 6. Editora da UFSC; 2010.

99. Lambert JD, Hong J, Yang GY, Liao J, Yang CS. Inhibition of carcinogenesis by polyphenols: evidence from laboratory investigations. Am J Clin Nutr. 2005;81(1):284-91.

100. Oliveira DM, Bastos DHM. Biodisponibilidade de ácidos fenólicos. Rev Quím Nova, 2011;34(6):1051-6.

101. Kumar Singh A, et al. Beneficial effects of dietary polyphenols on gut microbiota and strategies to improve delivery efficiency. Nutrients. 2019;11(9):1-21.

102. Alves-Santos AM, Sugizaki CSA, Lima GC, et al. Prebiotic effect of dietary polyphenols: A systematic review. J Funct Foods. 2020;74(1):1-11.

103. Cozzolino D. The role of visible and infrared spectroscopy combined with chemometrics to measure phenolic compounds in grape and wine samples Molecules. 2015; 20(1):726-37.

104. Brglez Mojzer E, Knez Hrnčič M, Škerget M, Knez Ž, Bren U. Polyphenols: extraction methods, antioxidative action, bioavailability and anticarcinogenic effects. Molecules. 2016;21(7):1-38.

105. Soares M, Welter L, Kuskosk EM, Gonzaga L, Feet R. Compostos fenólicos e antioxidante da casca de uvas Niágara e Isabel. Ver Bras Frutic. 2008;30(1):59-64.

106. Joseph SV, Edirisinghe I, Burton-Freeman BM. Fruit Polyphenols: A review of anti-inflammatory effects in humans. Crit Rev Food Sci Nutr. 2016;56(3):419-44.

107. Dai J, Mumper RJ. Plant phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. Molecules, 2010;15(10):7313-52.

108. Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TBCA). Tabelas Complementares – Flavonoides. Universidade de São Paulo (USP). Food /Research Center (FoRC). Versão 7.0. São Paulo, 2019. [Acesso em: 07 out. 2019]. Disponível em: http://www.fcf.usp.br/tbca/.

109. Roberfroid M. Prebiotics: the concept revisited. J Nutr. 2007;137(1):830-7.

110. Fogliano V, et al. *In vitro* bioaccessibility and gut biotransformation of polyphenols present in the water-insoluble cocoa fraction. Mol Nutr Food Res. 2011;55(1):44-55.

111. Kong JM, Chia LS, Goh NK, Chia TF, Brouillard R. Analysis and biological activities of anthocyanins. Phytochemistry. 2003;64(5):923-33.

112. Morais CA, Rosso VV, Estadella D, Pisani LP. Anthocyanins as inflammatory modulators and the role of the gut microbiota. J Nutr Biochem. 2016;33(1):1-7.

113. Melo FHC, Menezes FNDD, De Sousa JMB, Santos Lima M, Borges GDSC, Souza EL, Magnani M. Prebiotic activity of monofloral honeys produced by stingless bees in the semi-arid region of Brazilian Northeastern toward *Lactobacillus acidophilus* LA-05 and Bifidobacterium lactis BB-12. Food Res Int. 2020;128(1):1-11.

114. Santhakumar AB, Battino M, Alvarez-Suarez JM. Dietary polyphenols: structures, bioavailability and protective effects against atherosclerosis. Food Chem Toxicol. 2018;113(1):49-65.

115. Monagas M, Khan N, Andrés-Lacueva C, Urpí-Sardá M, Vázquez-Agell M, Lamuela-Raventós RM, Estruch R. Dihydroxylated phenolic acids derived from microbial metabolism reduce lipopolysaccharide-stimulated cytokine secretion by human peripheral blood mononuclear cells. Br J Nutr. 2009;102(2):201-6.

116. Durazzo A, Lucarini M, Souto EB, Cicala C, Caiazzo E, Izzo AA, et al. Polyphenols: A concise overview on the chemistry, occurrence, and human health. Phytother Res. 2019;33(9):2221-43.

117. Shortt C, Hasselwander O, Meynier A, Nauta A, Fernández EN, Putz P, Antoine JM. Systematic review of the effects of the intestinal microbiota on selected nutrients and non-nutrients. Eur J Nutr. 2018;57(1):25-49.

118. Ma H, Zhang B, Hu Y, Wang J, Liu J, Qin R, Wang S. Correlation analysis of intestinal redox state with the gut microbiota reveals the positive intervention of tea polyphenols on hyperlipidemia in high fat diet fed mice. J Agric Food Chem. 2019;67(1):7325-35.

119. Xing YW, Lei GT, Wu QH, Jiang Y, Huang MX. Procyanidin B2 protects against diet-induced obesity and nonalcoholic fatty liver disease via the modulation of the gut microbiota in rabbits. World J Gastroenterol. 2019;25(1):955-66.

120. Guergoletto KB, Costabile A, Flores G, Garcia S, Gibson GR. *In vitro* fermentation of juçara pulp (*Euterpe edulis*) by human colonic microbiota. Food Chem. 2016;196(2):251-58.

121. AOAC - Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis. 19. ed. Washington, DC: AOAC, 2010.

122. Albuquerque TMR, Borges CWP, Cavalcanti MT, Santos Lima M, Magnani M, Souza EL. Potential prebiotic properties of flours from different varieties of sweet potato (Ipomoea batatas L.) roots cultivated in Northeastern Brazil. Food Biosci. 2020;36(1):1-13.

123. Huebner J, Wehling RL, Hutkins RW. Functional activity of commercial prebiotic. Int. Dairy. J. 2007;17(3):770-5.

CAPÍTULO 2 – MANUSCRITO

Prebiotic potential of residues from Cerrado native fruits, Puçá (*Mouriri elliptica* Mart.) and Gabiroba (*Campomansia adamantium*), on probiotic bacteria

Jéssica Pereira Barbosa[1], Marcos dos Santos Lima[2], Patrícia Amaral Souza Tette[1]*

[1]*School of Nutrition, Federal University of Goiás, Rua 227, s/n, St Leste Universitário, Goiânia, Goiás, 74605-080, Brazil.*

[2]*Department of Food Technology, Federal Institute of Sertão de Pernambuco, Petrolina, Petrolina, Brazil*

*Corresponding author.

E-mail address: patricia.amaral@ufg.br; ORCID ID: 0000-0002-1617-8239 (P.A.S. Tette).

Abstract

The aim of this study was to investigate the prebiotic potential of residues from puçá (PR) and gabiroba (GR). The residues characterization was carried out through proximate analysis, fiber content, sugars, organic acids and phenolic compounds contents. The fermentative capacity of *Lactobacillus acidophilu*s LA-05, *Lactobacillus casei* L-26 and *Bifidobacterium animalis* subsp. lactis BB-12 and the prebiotic activity scores (PAS) in the presence of two strains of *Escherichia coli* were evaluated. PR and GR presented high

levels of dietary fiber (55.70% and 65.29%), lipids (18.48% and 13.05%), and PR showed considerable carbohydrate content (12.90%). Substantial content of phenolic compounds were found in PR and GR: catechin (44.71 $mg.L^{-1}$ ± 1.49 in GR) and procyanidin B2 (12.97 $mg.L^{-1}$ ± 0.33 in PR and 13.88 $mg.L^{-1}$ ± 0.72 in GR). Cultivation of the probiotics in media with PR and GR (20 $g.L^{-1}$) was promising, with high counts (9.27-13.23 log $CFU.mL^{-1}$), decrease in pH values, positive PAS for all strains, similar to fructooligosaccharides (20 $g.L^{-1}$), increased production of short-chain fatty acids (i.e., lactic, acetic, and propionic) and consumption of glucose and fructose over time, indicating intense metabolic activities. The phenolic compounds of the both residues may be involved on the mechanism of the prebiotic activity observed. Therefore, the residues from puçá and gabiroba are potential prebiotic ingredients for use in formulation of foods, increasing the nutritional value and reducing the negative impacts on the environment that can caused by their discard.

Keywords: Cerrado fruits; prebiotic potential; *Lactobacillus*; *Bifidobacterium*; phenolic compounds.

1. Introduction

Cerrado is one of the most biodiverse tropical Savannahs in the world (Bailão et al., 2015). This Savannah produces a diversity of fruit species with peculiar shapes, colors, aromas, and flavors, and the edible part of these fruits has been investigated because of its nutritional quality and content of bioactive compounds beneficial to human health (Clerici & Carvalho-Silva, 2011; Oliveira et al., 2012; Souza et al., 2012).

Mouriri elliptica Mart. is a fruit of the *Melastomataceae* family that can be found in several Brazilian states, mainly in Goiás (Silveira, 2008). The fruit, known as puçá, has

a greenish-yellow color, round shape and a sweet orange pulp that contains vitamin C, carotenoids, anthocyanins, and flavanols, which determines its high antioxidant potential and justifies its inclusion in human consumption (Rufino et al., 2009; Rufino et al., 2010). In addition to the nutritional quality, from a technological point of view, puçá has favorable characteristics for its applicability in the pulp and juice industry (Rufino et al., 2009).

Besides puçá, *Campomanesia adamantium* (Cambess.) O. Berg is another native fruit from Cerrado from the *Myrtaceae* family and it is called gabiroba. The fruits are small, has greenish-yellow color and round shape, with a whitish pulp involving several seeds. Important nutrients such as fiber, iron, potassium, and calcium, and high levels of antioxidants are present in the fruit (Alves et al., 2013). The edible part of gabiroba has a sweet flavor and considerably high yield, being an important factor to intensify its use for jams, jellies, ice cream, popsicles, juices, and liqueurs producing, with good sensory acceptance (Cândido et al., 2009; Morzelle et al., 2015).

Puçá and gabiroba fruits have technological potential for the development of products on an industrial scale, already being used for the production of popsicles in Goiás. However, fruit processing can generate a significant volume of residues, mainly composed of peel and seed that are often discarded into the environment without any commercial use (Babbar et al., 2011). The nutritional characteristics of the pulp of these fruits are already known, but studies about the peel and seeds are restricted to the centesimal composition and bioactive compounds (Alves et al., 2013, 2017). These residues have relevant characteristics for the development of new products with high nutritional value (Majerska et al., 2019; Oldfield et al., 2016).

Studies have investigated the functional value of fruit residues and their prebiotic potential, because of the high content of non-digestible carbohydrates, aiming their use

by the food industry (Andrade et al., 2020; Babbar et al., 2011; Barros et al., 2012; Duarte et al., 2017; Viscardi et al., 2017). According to (Gibson et al., 2017), prebiotic is a substrate selectively used by host microorganisms that are capable of promoting health benefits. These microorganisms are known as probiotics, and in the fermentation process, they produce metabolites such as short-chain fatty acids (SCFA) that may promote beneficial effects in health (Al-Sheraji et al., 2013; Gibson et al., 2004).

In this context, the present study aims to evaluate the *in vitro* prebiotic potential of puçá and gabiroba residues. Therefore, the physicochemical characteristics of the studied residues were determined, as well as the capacity of cultures of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium*, with recognized probiotic potential, to use these residues as a carbon source. The effects of residues on bacterial metabolic activity, related to pH values decrease, were also evaluated.

2. Material and methods

2.1 Fruit collection and residues preparation

The fruits were collected in the mature stage for consumption in areas free from pesticides. Puçá fruits were harvested in the experimental area of the School of Agronomy in Federal University of Goiás (16º 35'47" S 49º 16'51" W, Goiás, Brazil) and the gabiroba fruits were obtained in the Cerrado fruit processing unit in Piracanjuba (17° 17′ 47″ S 49° 0′ 38″ W, Goiás, Brazil). Selected fruits to be used in the experiments were transported to the Laboratory, washed in running water, and weighed (Elgin®, Sa-110, Brazil).

Peel and seeds from puçá and gabiroba were separated from the pulp in an industrial pulping machine 0.25 DF (Bonina®, Itabuna, Brazil), sieved 2.5 mm. The residues samples (peel and seeds) were homogenized, freeze-dried (Liotop®, L108, Brazil) and crushed in an industrial blender (Metvisa®, Itabuna, Brazil) until obtaining a powder that were vacuum-packed (Selovac®, Microvac, Brazil) in transparent packages, wrapped in aluminum foil, separated, and stored under refrigeration (-18 ºC) until the moment of analysis. Thus, freeze-dried puçá residues (PR) and freeze-dried gabiroba residues (GR) were obtained.

2.2 Characterization of freeze-dried puçá and gabiroba residues

2.2.1 Physicochemical characterization

Physicochemical characteristics of PR and GR were determined with standards procedures. The samples were evaluated separately for moisture, ash, total nitrogen according to micro-kjeldahl method, and protein. Total carbohydrate content was estimated by difference. The centesimal composition allowed estimating the energy value of the samples, considering the Atwater conversion factors of 4.0, 4.0 and 9.0 kcal.g^{-1} for proteins, carbohydrates, and lipids, respectively. An enzymatic-gravimetric method was used to measure the total, soluble and insoluble fiber contents (AOAC, 2010).

2.2.2 Sugars, organic acids and phenolic compounds content

To determine sugar content (maltose, glucose, rhamnose and fructose) and organic acids (citric, tartaric, malic, succinic, lactic, formic, acetic and propionic), aqueous extracts of PR and GR were prepared. 0.5 g of the samples were diluted in 10 mL of

ultrapure water (Merck Milipore® Direct Q3, São Paulo, Brasil) at 50 ºC in a microprocessed digital sample homogenizer for 5 min. The mixture was centrifuged (3000 x g 5 min, 24°C) and the supernatant was filtered (hydrophilic polyamide membrane with porosity of 0.45 µm). To determine the phenolic compounds, methanol extracts of PR and GR were also prepared. 1 g of the samples were added in 5 mL of methanol 70% and homogenized in ultrasound bath (USC-2800 A, Unique, Indaiatuba, Brazil) for 60 min. Then the samples were centrifuged (3000 x g 5 min, 24 ºC) and the supernatant was filtered (hydrophilic polyamide membrane with a porosity of 0.45 µm).

Subsequently, the extracts were analyzed in high-performance liquid chromatography (HPLC), according to Lima et al. (2019). An Agilent chromatograph model 1260 Infinity LC, Agilent Technologies, St. Clara, CA, USA was used with a quaternary solvent pump (G1311C model), degasser, thermostatic column compartment (G1316A model) and automatic auto sampler (G1329B model), coupled with a diode array detector (DAD) (G1315D model) and refractive index detector (RID) (G1362A model). The other analytic conditions were as follows: an Agilent Hi-Plex H column (7.7 × 300 mm, 8 µ); mobile phase H_2SO_4 (4 mM/l) in ultrapure water; and flow rate 0.7 ml/min. The data were processed using the OpenLAB CDS ChemStation Edition™ software (Agillent Technologies). The HPLC sample peaks were measured by comparing their retention times with the previously mentioned standards of sugars, organic acids and phenolic compounds (Sigma-Aldrich). Duplicate injections were done and average peak areas were used for quantification using the standards (Lima et al., 2019).

2.3 In vitro determination of prebiotic potential

2.3.1 Microorganisms and growth conditions

The *in vitro* assays were performed with three isolates with well-known probiotic properties (Fijan, 2014): *Lactobacillus acidophilus* LA-05, *Lactobacillus casei* L-26, and *Bifidobacterium animalis* subsp. lactis BB-12, supplied by the Microorganisms Collection of the Faculty of Biotechnology at the Catholic University of Portugal (Porto, Portugal). Stock cultures were maintained in Mann, Rogosa and Sharpe (MRS) broth (Kasvi, Spain) with glycerol (Neon, Brazil) at -80 ºC. Before the assays, *L. acidophilus* and *L. casei* cultures were reactivated three times in MRS broth at 37 ºC during 24 h under aerobic conditions. To reactivate *B. animalis*, MRS broth was supplemented with 0.5 $g.L^{-1}$ l-cysteine-HCl (Exodo, São Paulo, Brazil) under anaerobic conditions at the same temperature and time for *Lactobacillus*. The anaerobic atmosphere was generated from a mixture composed of calcium carbonate, HCl and water, in an anaerobic jar (Permution®, Brazil).

Cultures of *Escherichia coli* were used to determine the prebiotic activity score (described in section 2.3.5). *E. coli* ATCC 25922 and *E. coli* ATCC 8739, supplied by Food Hygienic and Sanitary Control Laboratory of the School of Nutrition at the Federal University of Goias and Laboratory of Biotechnology and Microorganisms (LBMic) of the Faculty of Pharmacy at the Federal University of Goiás (Goiânia, Brazil), were maintained in Brain Heart Infusion (BHI) (Kasvi, Spain) at 37 ºC for 18-20 h under aerobic conditions. The different cultures of *E. coli* were used together as an enteric mixture with a ratio of 1:1 (T. M. R. Albuquerque et al., 2020). The optical density (OD) of each microorganism was standardized in a spectrophotometer (Jasco, USA) at 655 nm of absorbance, being approximately 0.8 for the probiotic bacteria and 0.1 for the enteric bacteria.

2.3.2 Bacterial cultivation media

The fermentation process was performed according to the methodology adapted from (Albuquerque et al., 2020). For the experimental analyses, MRS broth with modified carbon source was prepared and used as a basal medium to evaluate the probiotic bacterial growth and metabolic activity in each sample. The composition of the prepared media was: tryptone (Kasvi, Spain) 10 $g.L^{-1}$, meat extract (Kasvi, Spain) 8 $g.L^{-1}$, yeast extract (Kasvi, Spain) 4 $g.L^{-1}$, di-potassium hydrogen phosphate (Neon, Brazil) 2 $g.L^{-1}$, tween 80 (Neon, Brazil) 1 $g.L^{-1}$, sodium acetate (Neon, Brazil) 5 $g.L^{-1}$, tribasic ammonium citrate (Sigma-Aldrich) 2 $g.L^{-1}$, magnesium sulfate (Neon, Brazil) 0.2 $g.L^{-1}$, manganese sulfate (Neon, Brasil) 0.04 $g.L^{-1}$ and their respective carbon source (PR or GR) 20 $g.L^{-1}$.

For monitoring the growth of the probiotic strains, three medias were also prepared with glucose (Neon, Brazil) (GLU), as a non-prebiotic control, fructooligosaccharides (Orafti, Bélgica) (FOS) as a positive prebiotic control (Gibson et al., 2017), and without carbon source added (WCS) as a negative control. The concentration of each carbon source was 20 $g.L^{-1}$, as the standard commercial MRS broth. Before inoculating the microorganisms into the media, each media with their respective carbon source were placed in an ultrasonic bath (Unique, Indaiatuba, Brazil) for 60 min in order to dissolve the particles completely.

After medias preparation and sterilization in tubes (10 mL), the probiotic microorganisms were inoculated (200 µL) separately in each specific cultivation broth. The tubes were homogenized and incubated at 37 ºC for 24 h in aerobic conditions, for *L. acidophilus* and *L. casei* and in anaerobic conditions for *B. animalis*.

2.3.3 Measurement of probiotic viable cell counts

For the enumeration of viable cell counts, MRS agar was prepared similarly to the broth, but added with bacteriological agar (Kasvi, Spain) and supplemented with 0.5 $g.L^{-}$

[1] l-cysteine-HCl for *B. animalis* plates. The tubes with 10 mL of each media and 200 µL of each inoculum were homogenized in vortex for 10 s and 100 µL of each tube were serially diluted in sterile saline solution (8.5 $g.L^{-1}$). Subsequently, 20 µL aliquots of each dilution were plated on MRS agar by the drop plate technique (Herigstad et al., 2001) in each interval time: zero (immediately after inoculation and homogenization), after 12, 18, 24, and 48 h of incubation. The plates were incubated at 37 °C for 48 h and the viable cells were counted (log $CFU.mL^{-1}$) (Mousavi & Mousavi, 2019).

2.3.4 Evaluation of bacterial metabolic activity

To evaluate the bacterial metabolic activity, the pH values in cultivation media at different incubation time (0, 12, 18, 24 and 48 h) were analyzed. The pH values were measured using a digital pH meter (Adwa®, AD1000, Hungary). Sugar consumption and organic acid production were also evaluated at all incubation time, using HPLC as described in section 2.2.2.

2.3.5 Measurement of prebiotic activity scores

The prebiotic activity score (PAS) reflects quantitatively the ability of substrates to promote the growth of specific microorganisms in the presence of microbiota competitors, such as *E. coli*, and comparing to the growth in non-prebiotic substrates, such as GLU. For PAS assays, M9 broth (Sigma-Aldrich) was used as a basal medium with PR, GR, GLU and FOS (20 $g.L^{-1}$). Before inoculating the enteric mixture, each media with their respective carbon source were placed in an ultrasonic bath (Unique, Indaiatuba, Brazil) for 60 min. 100 µL of the enteric mixture were added in 10 mL of each tube and homogenized. 100 µL of the mixture were serially diluted in sterile saline solution (8.5 $g.L^{-1}$). Subsequently, 20 µlL aliquots of each dilution were plated on Eosin

Methylene Blue (EMB) (Kasvi, Spain) agar by the drop plate technique in initial time (0 h) and after 48 h. The plates were incubated at 37 ºC for 48 h. The viable cells were counted (log CFU.mL^{-1}) and used as the denominator of PAS formula, while the probiotic viable cells counted in media with GLU with *Lactobacillus* and *Bifidobacterium*, at 0 and after 48h (described in section 2.3.3) were used in the numerator of the formula, previously described by (Huebner et al., 2007):

$$\mathrm{PAS} = \left(\frac{\text{probiotic log CFU.mL}^{-1}\text{ on prebiotic at 48 h} - \text{probiotic log CFU.mL}^{-1}\text{ on prebiotic at 0 h}}{\text{probiotic log CFU.mL}^{-1}\text{ on glucose at 48 h} - \text{probiotic log CFU.mL}^{-1}\text{ on glucose at 0 h}}\right) - \left(\frac{\text{enteric log CFU.mL}^{-1}\text{ on prebiotic at 48 h} - \text{enteric log CFU.mL}^{-1}\text{ on prebiotic at 0 h}}{\text{enteric log CFU.mL}^{-1}\text{ on glucose at 48 h} - \text{enteric log CFU.mL}^{-1}\text{ on glucose at 0 h}}\right)$$

2.4 Statistical analysis

Physicochemical parameters were performed in triplicate for PR and GR and results were expressed as average ± standard derivation. In *in vitro* assays, for each one of the isolates, the evaluations were carried out in biological duplicates in three different experiments. The data were submitted to analysis of variance (ANOVA), followed by the Tukey test. Differences were considered statistically significant when $p \leq 0.05$. Deviations from normality of the residuals were evaluated using the Shapiro-Wilk's test. In general, for all variations, a good adjustment to normality was observed. The software used for the analysis was R Core Team (2021): R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

3. Results and discussion

Freeze-dried residues of puçá and gabiroba showed notable lipid content (18.48% ± 0.0 and 13.05% ± 0.53) that can be explained by the presence of seeds in the samples (Table 1). Fruits seeds from Cerrado have great exploitation potential due to their high oil content, such as pequi, murici and sweet passionfruit seeds, with 50%, 15% and 29.6% of lipid, respectively (Araújo et al., 2018). Therefore, puçá and gabiroba seeds could also be used for oil extraction.

TABLE 1

PR showed high content of carbohydrates (12.90% ± 0.50), such as jerivá byproduct, a fruit from palm tree, which presented 11.58% of carbohydrates (Andrade et al., 2020). PR and GR also contain glucose and fructose in their composition that can be fermentable substrates to improve the growth of probiotic bacteria from microbiota. *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* species are capable of converting glucose and fructose into lactic acid and acetic acid, known as important metabolic features of the fermentation process (Kaprasob et al., 2017; Sousa et al., 2015). After the consumption of simple carbohydrates, probiotic microorganisms consume nondigestible carbohydrates, lowering the pH and reducing the pathogens of the gut (Lamsal, 2012; Slavin, 2013).

The proximate composition of puçá peel and seeds has not been documented until now. The dietary fiber content in PR was high, especially the insoluble fiber. In 100 g, 55.70 g of insoluble fibers were found, higher than the content observed in the freeze-dried byproduct of cashew apple (27.72%) (Duarte et al., 2017). Insoluble fibers are generally poorly fermented by gut microbes, but their presence in the diet increases fecal volume, reduce intestinal transit time that reaches the intestine, and thus reduces the amount of time available for colonic bacterial fermentation of non-digested food (Holscher, 2017; Roberfroid, 2007). Furthermore, fruit residues with greater dietary fiber content can be use a potential ingredient for food products, such as cookies, cakes and

cereal bars, minimizing waste and encouraging the sustainable development of Cerrado Savannah (Albuquerque et al., 2015; Morzelle et al., 2015). GR also presented high amounts of total fiber (65.29% ± 0.64), and a higher content of soluble fiber than PR. Soluble fibers, such as FOS, are largely metabolized by bacteria more proximally in the gastrointestinal tract, therefore, it is expected a greater prebiotic potential of GR (Holscher, 2017).

PR and GR presented important values of phenolic compounds (Table 2). A study has demonstrated that gabiroba peel and seeds present higher content of phenolic compounds (1787.65 mg AGE.100g^{-1}) than the gabiroba pulp (1222.59 mg AGE.100g^{-1}) (Alves et al., 2013). Comparing to traditional consumed fruits and others residues from exotic fruits, such as jatobá peel and araçá-boi seeds, GR stands out in phenolic compounds content and antioxidant capacity (Contreras-Calderón et al., 2011). The proximate composition and phenolic compounds content of the residues suggests technological potential to novel food products production for human consumption with health benefits.

TABLE 2

Recent studies have shown that certain phenolic compounds also participate in the modulation of the intestinal microbiota with growth stimulation of probiotic microorganisms and increase production of SCFA, assuming the role of prebiotics (Alves-Santos et al., 2020; Tomás-Barberán et al., 2016). Substantial content of catechin was observed in GR (44.71 mg.L^{-1} ± 1.49), a flavonoid that can be metabolized by gut microbiota, generating hydroxy phenylacetic and hydroxyphenyl propionic acids (Shortt et al., 2018). Catechins also increased the growth of *Bifidobacterium*, *Akermancia* and *Roseburia* in mice fed a high-fat diet after the consumption of green tea polyphenols (Dey et al., 2019; Ma et al., 2019).

Notable contents of procyanidin B2 were found in both residues (12.97 $mg.L^{-1}$ ± 0.33 for PR and 13.88 $mg.L^{-1}$ ± 0.72 for GR). This polyphenol is an oligomeric anthocyanin precursor widely found in berries and recent evidence shows a significantly improve on the proportions of *Bacteroidetes* and *Akkermansia* on the gut microbiota of rabbits supplemented with this compound (Xing et al., 2019). Also, beneficial microorganisms mutually modulate the activity of polyphenols, converting them into smaller substances and increasing their bioavailability, making them more effective in the health of consumers (Guergoletto et al., 2016). Therefore, polyphenols can modulate the intestinal microbial composition and, consequently, can indirectly influence their own metabolism and bioavailability (Duda-Chodak et al., 2015). This fact shows that polyphenols founded in PR and GR and their metabolites contribute to the promotion of intestinal health.

To evaluate if Cerrado fruits residues could promote the growth of potentially probiotic bacteria, *in vitro* assays were performed. Viable cell counts in growth media during fermentation represent intense metabolic activities (Duarte et al., 2017). The microbial growth (log $CFU.mL^{-1}$) of the probiotic strains were higher between the times 12, 18 and 24 h for all the media with substrates, except in the media without addition of carbon source, which did not show any growth for any of the tested bacteria ($p > 0.05$) (Figure 1B, 1D and 1F). Therefore, the increased growth verified in media containing each of the added carbon sources is related to the potential for survival and growth enhancement of these probiotic bacteria. The experimental conditions were also validated through experiments with positive controls performed with modified MRS broth supplemented with GLU and FOS.

When evaluating the growth curves, PR and GR were used as a substrate for all of the probiotic microorganisms, and better growth was observed for *L. casei* strain in the

media with GR. When compared to the growth of *L. acidophilus* and *B. animalis*, the difference between their growths with the same substrate can be attributed to the ability of specific carbohydrates metabolism resulting from the genomic and metabolic diversity of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* (Martino et al., 2016; Watson et al., 2013).

FIGURE 1

In 12, 24 and 48 h of incubation, the growth of *L. acidophilus* on media containing GR was similar to the growth in media with GLU and FOS ($p > 0.05$). There was no decrease on the growth of *L. acidophilus* and *B. animalis* in the medium containing PR during the totally incubation time, while in the media with GLU and FOS, a decrease was observed, suggesting that the culture medium containing PR seems to better support the growth of these probiotic bacteria during the incubation (Figure 1B and 1F). It is known that complex carbohydrates are absorbed more slowly than glucose, been used as an energy source in fermentation to produce beneficial metabolites for human (Koh et al., 2016). In addition, prolonged of cell viability of probiotic through the time may prolong the microbial beneficial effects on the host by interactions with the epithelium and immune cells of the intestine (Jung et al., 2021).

The results of the viable cell count assays showed that the medium containing PR and GR promoted the growth of the tested probiotic cultures. Therefore, pH determination assays were performed to confirm the prebiotic effects. As expected, considerable decreases were observed in the pH values of the media containing GLU, FOS, PR and GR in all tested strains. Media without carbon source presented minimum low of pH. Lowest pH values of cultivation media were reached after 18 or 48 h (Figure 1A, 1C and 1E).

After 48 h of fermentation at 37 °C, the positive control samples (GLU and FOS) had pH decrease up to 3.2 and in the medium containing PR and GR up to 4.7. The lowest

pH value at the end of the cultivation was found in the medias inoculated with *B. animalis*, where GR presented lower pH than PR. *Bifidobacterium* can use non-digestible carbohydrates of plant cell walls, indicating the potential prebiotic of these compounds (Cantu-Jungles et al., 2017). Therefore, the media with GR reached a higher decrease in pH compared to PR on *B. animalis* growth, which may be explained by the GR composition, with fructose (2.27 $g.L^{-1}$ ± 0.06) and glucose (1.49 $g.L^{-1}$ ± 0.04), high insoluble fiber content (63.79%), as well as a significant soluble fiber content (1.5%) (Andrade et al., 2016; Capuano, 2017; Holscher, 2017).

At 12, 18 and 24 h of fermentation by *B. animalis*, media with PR and GR presented decrease on pH values statistically similar to FOS ($p < 0.05$), a prebiotic compound used to stimulate the growth of probiotic bacteria through cross feeding interactions and promotes the production of SCFAs with health-promoting benefits that can regulate gut functions, such as mucus and epithelial barrier function, glucose and lipid metabolism, immunity and satiety (Cunningham et al., 2021).

The prebiotic activity scores (PAS) of puçá and gabiroba residues reflects quantitively the ability of the substrates to promote selective growth of specific microorganisms in the presence of competitors of the microbiota gut, like *Escherichia coli*. Positive values of PAS were found for PR, GR and FOS (Table 3). GR and PR PAS were similar to FOS in all of the probiotic strains. Substrates with great PAS can support the growth of probiotic bacteria, and for a positive PAS value, cellular growth of enteric bacteria cultivated with probiotics should be lower than the growth on media with GLU, as well as the ones in this study (Huebner et al., 2007).

TABLE 3

Pectin oligosaccharides are considered as an emerging prebiotic with gut regulation properties, and this compound, obtained from citrus peel pectin, showed

prebiotic activity scores of 0.41 for *Lactobacillus*, comparable to PR in *L. casei* (0.39 ± 0.16) and GR (0.39 ± 0.15) in *L. acidophilus* PAS presented in this study (Zhang et al., 2018). The PAS for FOS or the tested residues were great on *B. animalis*, finding also reported by (Melo et al., 2020) for monofloral honeys produced by native bees from Brazilian Northeastern.

During the fermentation process, the contents of fructose, glucose and maltose decreased ($p < 0.05$) in media with all of the carbon sources and inoculated probiotic strains (Table 4). Regardless of the inoculated probiotic, fructose was the most depleted sugar after 48 h of incubation in media with PR and GR. These results indicate that both residues were metabolized by *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* isolates with consumption of sugars promoting high viable counts, such as FOS, indicating a positive result in investigation as prebiotic compound (Gibson et al., 2017; Sanders & Klaenhammer, 2001). Also, sugar consumption by probiotic bacteria is associated with decrease pH values during incubation time, indicating organic acid production, such as SCFA, that are important to intestinal health and can modulate metabolic activities, increasing immunological system, appetite and intestinal homeostasis (Gibson et al., 2017; Ribeiro et al., 2020).

TABLE 4

Latic and acetic acids are SCFA produced by *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* during carbohydrates colonic fermentation (Patrignani et al., 2018). Higher production of lactic acid in the medium with GLU and FOS inoculated with the probiotic strains can explains lower pH values observed when compared to media with PR and GR. However, at 18 and 48 h of fermentation, acetic acid was found in higher concentrations in media with PR inoculated with *L. acidophilu*s and *L. casei* when compared to media added with glicose and FOS. In media inoculated with *B. animalis*, at 48 h of incubation, PR also

showed higher content of acetic acid (4,06 $g.L^{-1}$ ± 0,38) to media with GLU (2,01 $g.L^{-1}$ ± 0,11) (Table 5). This SCFA is related to body weight control and glucose homeostasis, and can inhibit the growth of enteropathogenic bacteria from microbiota (Hernández et al., 2019).

TABLE 5

Lactic acid can be metabolized in the colon and converted to propionic acid (Barroso et al., 2016). Propionic acid contents decreased ($P < 0.05$) during cultivation in media with FOS inoculated with *B. animalis*, while in media with PR and GR presented higher content of this acid in all tested probiotic strains, especially on 48 h of incubation. The production of propionic acid by the intestinal microbiota in the presence of catechin and quercitin have increased when compared to FOS (Zheng et al., 2017), which could indicate that the phenolic compounds presented in PR and GR may have promoted the production of propionic acid by *Lactobacillus* and *Bifidobacterium*, in greater amounts (1,77 $g.L^{-1}$ ± 0,03 in PR and 2.63 $g.L^{-1}$ ± 0,05 in GR) than GLU (0.31 $g.L^{-1}$± 0,00) and FOS (0,47 $g.L^{-1}$ ± 0,01).

Citric, malic, succinic and formic acids were detected in significant amounts mainly on media with PR and GR. Organic acids belong to the primary metabolites in plants and are important components that can contribute to the taste of products with great consumer acceptance (Zheng et al., 2019). Also, the presence of these organic acids could be related with the ability of probiotic bacteria producing through fermentation process and inhibiting enteric pathogens (Albuquerque et al., 2020).

Although there are significant reports on literature regarding Cerrado peel, pulp and seeds fruits, the focus is on bioactive compounds and biological activities, such as antioxidant and anti-inflammatory (Malta et al., 2013; Prado et al., 2020; Rosa et al., 2016). Until now, there is no data on the prebiotic activity of Cerrado fruit residues, such

as PR and GR. These residues were all used as a carbon source in *in vitro* fermentation, therefore they stimulated the growth of the probiotic microorganisms, reduced pH of the medium and produced organic acids. Further studies are needed to the complete evaluation of these prebiotic effect. However *in vitro* studies are first steps in investigation of the functional effects of fruits, being an effective guide for *in vivo* experimental model researches.

4. Conclusions

The results of this study showed that puçá and gabiroba residues have relevant nutritional characteristics for promoting human health, since they presented important phenolic compounds and dietary fiber content. The residues also presented potential prebiotic properties toward recognized probiotic strains. PR and GR showed elevated prebiotic activity scores and growth effects toward *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* when compared to a recognized prebiotic (FOS) and glucose. The phenolic compounds of the both residues may be involved on the mechanism of the positive prebiotic activity observed. These findings demonstrate that puçá and gabiroba residues have industrial potential for being used as an ingredient for functional food products. This can encourage the industry to valorize the residues of these fruits and reduce the negative impacts on the environment caused by their discard.

Declaration of Competing Interest

The authors declare that they have no competing financial interests or personal relationships that could influence the work reported in this paper.

Acknowledgments

The authors thank the Graduate Program in Nutrition and Health (PPGNUT) and the School of Nutrition, Federal University of Goiás (Universidade Federal de Goiás – UFG) for the administrative and technical support.

Funding

This study was supported by Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, Brazil).

References

de Albuquerque, T. L., Gomes, S. D. L., Marques, J. E., Silva, I. J. da, & Rocha, M. V. P. (2015). Xylitol production from cashew apple bagasse by Kluyveromyces marxianus CCA510. *Catalysis Today*, *255*(1), 33–40. https://doi.org/10.1016/j.cattod.2014.10.054

Albuquerque, T. M. R., Borges, C. W. P., Cavalcanti, M. T., Lima, M. dos S., Magnani, M., & de Souza, E. L. (2020). Potential prebiotic properties of flours from different varieties of sweet potato (Ipomoea batatas L.) roots cultivated in Northeastern Brazil. *Food Bioscience*, *36*(1), 1–13. https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100614

Al-Sheraji, S. H., Ismail, A., Manap, M. Y., Mustafa, S., Yusof, R. M., & Hassan, F. A. (2013). Prebiotics as functional foods: A review. *Journal of Functional Foods*, *5*(4), 1542–1553. https://doi.org/10.1016/j.jff.2013.08.009

Alves, A. M., Alves, M. S. O., Fernandes, T. de O., Naves, R. V., & Naves, M. M. V. (2013). Physical and chemical characterization, total phenolics and antioxidant activity of the gabiroba pulp and residue. *Revista Brasileira de Fruticultura*, *35*(3), 837–844. https://doi.org/https://doi.org/10.1590/S0100-29452013000300021

Alves, A. M., Dias, T., Hassimotto, N. M. A., & Naves, M. M. V. (2017). Ascorbic acid and phenolic contents, antioxidant capacity and flavonoids composition of Brazilian savannah native fruits. *Food Science and Technology*, *37*(4), 564–569. https://doi.org/10.1590/1678-457x.26716

Alves-Santos, A. M., Sugizaki, C. S. A., Lima, G. C., & Naves, M. M. V. (2020). Prebiotic effect of dietary polyphenols: A systematic review. *Journal of Functional Foods*, *74*(1), 1–11. https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.104169

Andrade, A. C., Marinho, J. F. U., de Souza, A. C., de Sousa Tavares, T., Dias, D. R., Schwan, R. F., Nunes, C. A., & Bastos, S. C. (2020). Prebiotic potential of pulp and kernel cake from Jerivá (Syagrus

romanzoffiana) and Macaúba palm fruits (Acrocomia aculeata). *Food Research International*, *136*(1), 1–9. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109595

Andrade, R. M. S., Ferreira, M. S. L., & Gonçalves, É. C. B. A. (2016). Development and Characterization of Edible Films Based on Fruit and Vegetable Residues. *Journal of Food Science*, *81*(2), E412–E418. https://doi.org/10.1111/1750-3841.13192

Araújo, A. C. M. A., Menezes, E. G. T., Terra, A. W. C., Dias, B. O., Oliveira, É. R. de, & Queiroz, F. (2018). Bioactive compounds and chemical composition of Brazilian Cerrado fruits' wastes: Pequi almonds, murici, and sweet passionfruit seeds. *Food Science and Technology*, *38*(1), 203–214. https://doi.org/10.1590/fst.19417

Babbar, N., Oberoi, H. S., Uppal, D. S., & Patil, R. T. (2011). Total phenolic content and antioxidant capacity of extracts obtained from six important fruit residues. *Food Research International*, *44*(1), 391–396. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.10.001

Bailão, E. F. L. C., Devilla, I. A., da Conceição, E. C., & Borges, L. L. (2015). Bioactive compounds found in Brazilian cerrado fruits. *International Journal of Molecular Sciences*, *16*(10), 23760–23783. https://doi.org/10.3390/ijms161023760

Moraes Barros, H. R., de Castro Ferreira, T. A. P., & Genovese, M. I. (2012). Antioxidant capacity and mineral content of pulp and peel from commercial cultivars of citrus from Brazil. *Food Chemistry*, *134*(4), 1892–1898. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.03.090

Barroso, E., Montilla, A., Corzo, N., Peláez, C., Martínez-Cuesta, M. C., & Requena, T. (2016). Effect of lactulose-derived oligosaccharides on intestinal microbiota during the shift between media with different energy contents. *Food Research International*, *89*(2), 302–308. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.08.025

Cândido, T. L. N., de Freitas, J. B., & Silva, M. R. (2009). Effect of glucose syrup addition on physical and chemical properties and acceptability of gabiroba marmalade. *Revista Da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição*, *34*(2), 1–10. http://www.sban.com.br

Cantu-Jungles, T. M., Cipriani, T. R., Iacomini, M., Hamaker, B. R., & Cordeiro, L. M. (2017). A pectic polysaccharide from peach palm fruits (Bactris gasipaes) and its fermentation profile by the human gut microbiota in vitro. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, *9*(1), 1–6. https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2016.11.005

Capuano, E. (2017). The behavior of dietary fiber in the gastrointestinal tract determines its physiological effect. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *57*(16), 3543–3564. https://doi.org/10.1080/10408398.2016.1180501

Clerici, M. T. P. S., & Carvalho-Silva, L. B. (2011). Nutritional bioactive compounds and technological aspects of minor fruits grown in Brazil. *Food Research International*, *44*(7), 1658–1670. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.04.020

Contreras-Calderón, J., Calderón-Jaimes, L., Guerra-Hernández, E., & García-Villanova, B. (2011). Antioxidant capacity, phenolic content and vitamin C in pulp, peel and seed from 24 exotic fruits from Colombia. *Food Research International*, *44*(7), 2047–2053. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.11.003

Cunningham, M., Azcarate-Peril, M. A., Barnard, A., Benoit, V., Grimaldi, R., Guyonnet, D., Holscher, H. D., Hunter, K., Manurung, S., Obis, D., Petrova, M. I., Steinert, R. E., Swanson, K. S., van

Sinderen, D., Vulevic, J., & Gibson, G. R. (2021). Shaping the Future of Probiotics and Prebiotics. *Trends in Microbiology*, *29*(8), 667–685. https://doi.org/10.1016/j.tim.2021.01.003

Dey, P., Sasaki, G. Y., Wei, P., Li, J., Wang, L., Zhu, J., McTigue, D., Yu, Z., & Bruno, R. S. (2019). Green tea extract prevents obesity in male mice by alleviating gut dysbiosis in association with improved intestinal barrier function that limits endotoxin translocation and adipose inflammation. *Journal of Nutritional Biochemistry*, *67*(1), 78–89. https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2019.01.017

Duarte, F. N. D., Rodrigues, J. B., da Costa Lima, M., Lima, M. dos S., Pacheco, M. T. B., Pintado, M. M. E., de Souza Aquino, J., & de Souza, E. L. (2017). Potential prebiotic properties of cashew apple (Anacardium occidentale L.) agro-industrial byproduct on Lactobacillus species. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *97*(11), 3712–3719. https://doi.org/10.1002/jsfa.8232

Duda-Chodak, A., Tarko, T., Satora, P., & Sroka, P. (2015). Interaction of dietary compounds, especially polyphenols, with the intestinal microbiota: a review. *European Journal of Nutrition*, *54*(3), 325–341. https://doi.org/10.1007/s00394-015-0852-y

Fijan, S. (2014). Microorganisms with claimed probiotic properties: An overview of recent literature. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *11*(5), 4745–4767. https://doi.org/10.3390/ijerph110504745

Gibson, G. R., Hutkins, R., Sanders, M. E., Prescott, S. L., Reimer, R. A., Salminen, S. J., Scott, K., Stanton, C., Swanson, K. S., Cani, P. D., Verbeke, K., & Reid, G. (2017). Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, *14*(8), 491–502. https://doi.org/10.1038/nrgastro.2017.75

Gibson, G. R., Probert, H. M., Loo, J. van, Rastall, R. A., & Roberfroid, M. B. (2004). Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. *Nutrition Research Reviews*, *17*(2), 259–275. https://doi.org/10.1079/nrr200479

Guergoletto, K. B., Costabile, A., Flores, G., Garcia, S., & Gibson, G. R. (2016). In vitro fermentation of juçara pulp (Euterpe edulis) by human colonic microbiota. *Food Chemistry*, *196*(1), 251–258. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.09.048

Herigstad, B., Hamilton, M., & Heersink, J. (2001). How to optimize the drop plate method for enumerating bacteria. *Journal of Microbiological Methods*, *44*(1), 121–129. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0167-7012(00)00241-4

Hernández, M. A. G., Canfora, E., Jocken, J., & Blaak, E. (2019). The short-chain fatty acid acetate in body weight control and insulin sensitivity. *Nutrients*, *11*(8), 1–32. https://doi.org/10.3390/nu11081943

Holscher, H. D. (2017). Dietary fiber and prebiotics and the gastrointestinal microbiota. In *Gut Microbes* (Vol. 8, Issue 2, pp. 172–184). Taylor and Francis Inc. https://doi.org/10.1080/19490976.2017.1290756

Huebner, J., Wehling, R. L., & Hutkins, R. W. (2007). Functional activity of commercial prebiotics. *International Dairy Journal*, *17*(7), 770–775. https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2006.10.006

Jung, S. H., Hong, D. K., Bang, S. J., Heo, K., Sim, J. J., & Lee, J. L. (2021). The functional properties of lactobacillus casei hy2782 are affected by the fermentation time. *Applied Sciences (Switzerland)*, *11*(6), 1–11. https://doi.org/10.3390/app11062481

Kaprasob, R., Kerdchoechuen, O., Laohakunjit, N., Sarkar, D., & Shetty, K. (2017). Fermentation-based biotransformation of bioactive phenolics and volatile compounds from cashew apple juice by select lactic acid bacteria. *Process Biochemistry*, *59*(1), 141–149. https://doi.org/10.1016/j.procbio.2017.05.019

Koh, A., de Vadder, F., Kovatcheva-Datchary, P., & Bäckhed, F. (2016). From dietary fiber to host physiology: Short-chain fatty acids as key bacterial metabolites. *Cell*, *165*(6), 1332–1345. https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.05.041

Lamsal, B. P. (2012). Production, health aspects and potential food uses of dairy prebiotic galactooligosaccharides. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *92*(10), 2020–2028. https://doi.org/10.1002/jsfa.5712

Lima, M. S., Nunes, P. C., Lourdes de Araújo Silva, B., Silva Padilha, C. V., Bonfim, T. H. F., Stamford, T. L. M., Silva Vasconcelos, M. A., & Souza Aquino, J. (2019). Determining 1-kestose, nystose and raffinose oligosaccharides in grape juices and wines using HPLC: method validation and characterization of products from Northeast Brazil. *Journal of Food Science and Technology*, *56*(10), 4575–4584. https://doi.org/10.1007/s13197-019-03936-x

Ma, H., Zhang, B., Hu, Y., Wang, J., Liu, J., Qin, R., Lv, S., & Wang, S. (2019). Correlation analysis of intestinal redox state with the gut microbiota reveals the positive intervention of tea polyphenols on hyperlipidemia in high fat diet fed mice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *67*(26), 7325–7335. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b02211

Majerska, J., Michalska, A., & Figiel, A. (2019). A review of new directions in managing fruit and vegetable processing by-products. *Trends in Food Science and Technology*, *88*(1), 207–219. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.03.021

Malta, L. G., Tessaro, E. P., Eberlin, M., Pastore, G. M., & Liu, R. H. (2013). Assessment of antioxidant and antiproliferative activities and the identification of phenolic compounds of exotic Brazilian fruits. *Food Research International*, *53*(1), 417–425. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.04.024

Martino, M. E., Bayjanov, J. R., Caffrey, B. E., Wels, M., Joncour, P., Hughes, S., Gillet, B., Kleerebezem, M., van Hijum, S. A. F. T., & Leulier, F. (2016). Nomadic lifestyle of Lactobacillus plantarum revealed by comparative genomics of 54 strains isolated from different habitats. *Environmental Microbiology*, *18*(12), 4974–4989. https://doi.org/10.1111/1462-2920.13455

Melo, F. H. C., Menezes, F. N. D. D., Sousa, J. M. B., Santos Lima, M., Silva Campelo Borges, G., Souza, E. L., & Magnani, M. (2020). Prebiotic activity of monofloral honeys produced by stingless bees in the semi-arid region of Brazilian Northeastern toward Lactobacillus acidophilus LA-05 and Bifidobacterium lactis BB-12. *Food Research International*, *128*(1), 1–11. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108809

Morzelle, M. C., Bachiega, P., de Souza, E. C., Vilas Boas, E. V. D. B., & Lamounier, M. L. (2015). Caracterização química e física de frutos de Curriola, gabiroba e murici provenientes do cerrado brasileiro. *Revista Brasileira de Fruticultura*, *37*(1), 96–103. https://doi.org/10.1590/0100-2945-036/14

Mousavi, Z. E., & Mousavi, M. (2019). The effect of fermentation by Lactobacillus plantarum on the physicochemical and functional properties of liquorice root extract. *LWT*, *105*(1), 164–168. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.02.003

Official methods of analysis. (2010). *AOAC - Association of Official Analytical Chemists* (19th ed.).

Oldfield, T. L., White, E., & Holden, N. M. (2016). An environmental analysis of options for utilising wasted food and food residue. *Journal of Environmental Management*, *183*(3), 826–835. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.09.035

Oliveira, V. B., Yamada, L. T., Fagg, C. W., & Brandão, M. G. L. (2012). Native foods from Brazilian biodiversity as a source of bioactive compounds. *Food Research International*, *48*(1), 170–179. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.03.011

Patrignani, F., Modesto, M., Michelini, S., Sansosti, M. C., Serrazanetti, D. I., Qvirist, L., Siroli, L., Camprini, L., Mattarelli, P., & Lanciotti, R. (2018). Technological potential of Bifidobacterium aesculapii strains for fermented soymilk production. *LWT - Food Science and Technology*, *89*(3), 689–696. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.11.048

Prado, L. G., Arruda, H. S., Peixoto Araujo, N. M., de Oliveira Braga, L. E., Banzato, T. P., Pereira, G. A., Figueiredo, M. C., Ruiz, A. L. T. G., Eberlin, M. N., de Carvalho, J. E., Vendramini-Costa, D. B., & Pastore, G. M. (2020). Antioxidant, antiproliferative and healing properties of araticum (Annona crassiflora Mart.) peel and seed. *Food Research International*, *133*(1), 1–8. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109168

Ribeiro, T. S., Sampaio, K. B., Menezes, F. N. D. D., Assis, P. O. A., Lima, M. S., Oliveira, M. E. G., Souza, E. L., & Egypto Queiroga, R. de C. R. (2020). In vitro evaluation of potential prebiotic effects of a freeze-dried juice from Pilosocereus gounellei (A. Weber ex K. Schum. Bly. Ex Rowl) cladodes, an unconventional edible plant from Caatinga biome. *3 Biotech*, *10*(10), 1–9. https://doi.org/10.1007/s13205-020-02442-8

Roberfroid, M. (2007). Prebiotics: The Concept Revisited. *The Journal of Nutrition, 137*(1), 830–837. https://doi.org/https://doi.org/10.1093/jn/137.3.830S

Rosa, F. R., Arruda, A. F., Siqueira, E. M., & Arruda, S. F. (2016). Phytochemical compounds and antioxidant capacity of tucum-do-cerrado (Bactris setosa mart), Brazil's native fruit. *Nutrients*, *8*(3), 1–17. https://doi.org/10.3390/nu8030110

Rufino, M. D. S. M., Alves, R. E., Brito, E. S. de, Silveira, M. R. S. da, & Moura, C. F. H. (2009). Quality for fresh consumption and processing of some non-traditional tropical fruits from Brazil. *Fruits*, *64*(6), 361–370. https://doi.org/10.1051/fruits/2009032

Rufino, M. do S. M., Alves, R. E., de Brito, E. S., Pérez-Jiménez, J., Saura-Calixto, F., & Mancini-Filho, J. (2010). Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. *Food Chemistry*, *121*(4), 996–1002. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.01.037

Sanders, M. E., & Klaenhammer, T. R. (2001). Invited review. The scientific basis of Lactobacillus acidophilus NCFM functionality as a probiotic. *Journal of Dairy Science*, *84*(2), 319–331. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)74481-5

Shortt, C., Hasselwander, O., Meynier, A., Nauta, A., Fernández, E. N., Putz, P., Rowland, I., Swann, J., Türk, J., Vermeiren, J., & Antoine, J. M. (2018). Systematic review of the effects of the intestinal

microbiota on selected nutrients and non-nutrients. *European Journal of Nutrition*, *57*(1), 25–49. https://doi.org/10.1007/s00394-017-1546-4

Silveira, M. R. S. (2008). *Qualidade e atividade antioxidante de frutos de genótipos de puçazeiro 'coroa de frade' (Mouriri elliptica mart.) da vegetação litorânea do Ceará*.

Slavin, J. (2013). Fiber and prebiotics: Mechanisms and health benefits. *Nutrients*, *5*(4), 1417–1435. https://doi.org/10.3390/nu5041417

Sousa, S., Pinto, J., Pereira, C., Xavier Malcata, F., Bertoldo Pacheco, M., Gomes, A. M., & Pintado, M. (2015). In vitro evaluation of yacon (Smallanthus sonchifolius) tuber flour prebiotic potential. *Food and Bioproducts Processing*, *95*(1), 96–105. https://doi.org/10.1016/j.fbp.2015.04.003

Souza, V. R., Pereira, P. A. P., Queiroz, F., Borges, S. V., & de Deus Souza Carneiro, J. (2012). Determination of bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition of Cerrado Brazilian fruits. *Food Chemistry*, *134*(1), 381–386. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.02.191

Tomás-Barberán, F. A., Selma, M. v., & Espín, J. C. (2016). Interactions of gut microbiota with dietary polyphenols and consequences to human health. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, *19*(6), 471–476. https://doi.org/10.1097/MCO.0000000000000314

Viscardi, D. Z., de Oliveira, V. S., Arrigo, J. da S., Piccinelli, A. C., Cardoso, C. A. L., Maldonade, I. R., Kassuya, C. A. L., & Sanjinez-Argandoña, E. J. (2017). Anti-inflammatory, and antinociceptive effects of Campomanesia adamantium microencapsulated pulp. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, *27*(2), 220–227. https://doi.org/10.1016/j.bjp.2016.09.007

Watson, D., O'Connell Motherway, M., Schoterman, M. H. C., van Neerven, R. J. J., Nauta, A., & van Sinderen, D. (2013). Selective carbohydrate utilization by lactobacilli and bifidobacteria. *Journal of Applied Microbiology*, *114*(4), 1132–1146. https://doi.org/10.1111/jam.12105

Xing, Y. W., Wu, Q. H., Jiang, Y., Huang, M. X., & Lei, G. T. (2019). Procyanidin B2 protects against diet-induced obesity and nonalcoholic fatty liver disease via the modulation of the gut microbiota in rabbits. *World Journal of Gastroenterology*, *25*(8), 955–966. https://doi.org/10.3748/wjg.v25.i8.955

Zheng, C. J., Liu, R., Xue, B., Luo, J., Gao, L., Wang, Y., Ou, S., Li, S., & Peng, X. (2017). Impact and consequences of polyphenols and fructooligosaccharide interplay on gut microbiota in rats. *Food and Function*, *8*(5), 1925–1932. https://doi.org/10.1039/c6fo01783e

Zheng, J., Huang, C., Yang, B., Kallio, H., Liu, P., & Ou, S. (2019). Regulation of phytochemicals in fruits and berries by environmental variation—Sugars and organic acids. *Journal of Food Biochemistry*, *43*(6), 1–18. https://doi.org/10.1111/jfbc.12642

Table 1. Chemical composition (g.100 g^{-1}) of freeze-dried puçá and gabiroba residues used in assays to evaluate potential prebiotic properties.

Parameters	PR	GR
Moisture	4.35 ± 0.00	9.54 ± 0.31
Ash	2.45 ± 0.07	2.36 ± 0.03
Protein	6.15 ± 0.00	8.12 ± 0.27
Lipid	18.45 ± 0.00	13.05 ± 0.53
Total dietary fiber	55.70 ± 0.50	65.29 ± 0.64
Soluble fiber	<0.10	1.50 ± 0.08
Insoluble fiber	55.70 ± 0.50	63.79 ± 0.70
Carbohydrates	12.90 ± 0.50	1.64 ± 0.66
Sugars ($g.L^{-1}$)		
Maltose	NF	NF
Glucose	1.40 ± 0.29	1.49 ± 0.04
Rhamnose	NF	NF
Fructose	1.47 ± 0.13	2.27 ± 0.06
Organic acids ($g.L^{-1}$)		
Citric	0.46 ± 0.06	0.18 ± 0.01
Tartaric	NF	NF
Malic	0.04 ± 0.01	0.01 ± 0.01
Succinic	0.70 ± 0.07	0.60 ± 0.01
Lactic	NF	NF
Formic	0.06 ± 0.11	0.01 ± 0.00
Acetic	NF	NF
Propionic	NF	NF
Energy value ($kcal.100g^{-1}$)	242.25	156.49

LPR: puçá residue; GR: gabiroba residue; NF: not found.

Table 2. Contents ($mg.L^{-1}$) of phenolic compounds in freeze-dried puçá and gabiroba residues used in assays to evaluate potential prebiotic properties.

Phenolic compounds	PR	GR
Gallic acid	3.16 ± 0.16	4.49 ± 0.15
Syringic acid	0.25 ± 0.04	0.42 ± 0.06
Hesperidin	2.74 ± 0.11	5.40 ± 0.07
Cis-Resveratrol	0.75 ± 0.03	2.84 ± 0.23
Naringenin	2.77 ± 0.15	2.32 ± 0.09
Procyanidin B1	2.31 ± 0.29	16.52 ± 0.43
Procyanidin B2	12.97 ± 0.33	13.88 ± 0.72
Catechin	6.66 ± 0.15	44.71 ± 1.49
Epicatechin	0.18 ± 0.01	NF
Epicatechin gallate	5.79 ± 0.21	NF
Caftaric acid	8.53 ± 0.01	5.03 ± 0.17
Chlorogenic acid	0.14 ± 0.01	2.17 ± 0.26
Caffeic acid	0.07 ± 0.01	NF
p-Coumaric acid	NF	0.26 ± 0.00
Trans-Resveratrol	0.15 ± 0.01	0.10 ± 0.00
Myricetin	8.63 ± 0.34	2.99 ± 0.06
Quercitin 3-Glucoside	NF	3.25 ± 0.06
Rutin	1.29 ± 1.50	5.08 ± 0.07
Kaempferol 3-glucoside	1.46 ± 0.10	9.84 ± 0.20

PR: puçá residue; GR: gabiroba residue; NF: not found.

Table 3. Prebiotic activity scores (mean ± standard deviation) of fructooligosaccharides (FOS, 20 $g.L^{-1}$), freeze-dried puçá residue (PR) and gabiroba residue (GR) (20 $g.L^{-1}$) on different probiotic strains.

Strains	Carbon source		
	FOS	PR	GR
Lactobacillus acidophilus LA-05	0.36 ± 0.16	0.31 ± 0.06	0.39 ± 0.15
Lactobacillus casei L-26	0.49 ± 0.17	0.39 ± 0.16	0.53 ± 0.17
Bifidobacterium animalis subsp. lactis BB-12	0.40 ± 0.20	0.36 ± 0.13	0.42 ± 0.04

No significant difference ($p > 0.05$) among values found for PR, GR or FOS on different probiotic strains, as well as for PR, GR and FOS on a same probiotic strain, based on Tukey's test.

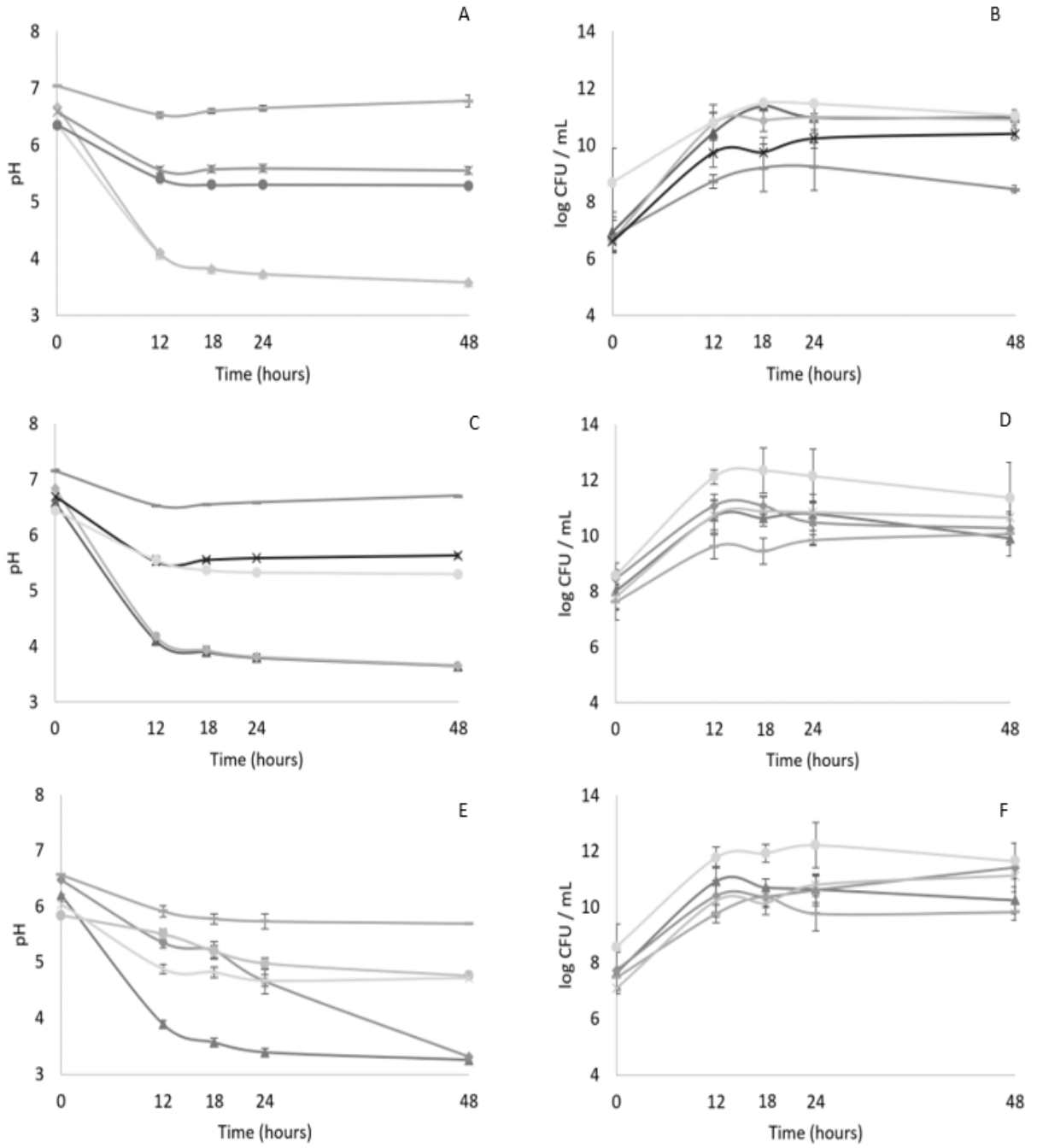


Figure 1. pH values and viable cell counts of *L. acidophilus* LA-05 (A, B), *L. casei* L-26 (C, D) and *B. animalis* BB-12 (E, F) in media with glucose, fructooligosaccharides, freeze-dried puçá residues, freeze-dried gabiroba residues, and without carbon source (negative control) during 48 h of incubation.

GLU: Glucose; FOS: Fructooligosaccharides; WCS: Without carbon source; PR: freeze-dried puçá residue; GR: freeze-dried gabiroba residue.

Table 4. Contents (g.L^{-1}) of sugars in media with glucose (20 g.L^{-1}), fructooligosaccharides (20 g.L^{-1}), puçá residue (20 g.L^{-1}), and gabiroba residue (20 g.L^{-1}) inoculated with *L. acidophilus*, *L. casei* and *B. animalis* during 48 h of incubation.

Sugars	Carbon source	Strains								
		L. acidophilus			*L. casei*			*B. animalis*		
		0 h	18 h	48 h	0 h	18 h	48 h	0 h	18 h	48 h
Maltose	GLU	0.53 ± 0.00^{Aa}	0.12 ± 0.00^{Ba}	0.03 ± 0.01^{Ba}	0.46 ± 0.09^{Aa}	0.10 ± 0.09^{Ba}	0.02 ± 0.00^{Ba}	0.48 ± 0.09^{Ab}	0.05 ± 0.05^{Bb}	0.03 ± 0.00^{Bb}
	FOS	0.88 ± 0.01^{Ab}	NF	NF	0.69 ± 0.14^{Ab}	NF	NF	0.44 ± 0.14^{Ac}	NF	NF
	PR	0.39 ± 0.05^{Ac}	NF	NF	0.35 ± 0.04^{Ab}	NF	NF	0.57 ± 0.03^{Aab}	NF	NF
	GR	0.48 ± 0.11^{Abc}	0.02 ± 0.02^{Bab}	NF	0.32 ± 0.02^{Ab}	0.01 ± 0.01^{Ba}	0.05 ± 0.07^{Ba}	0.64 ± 0.02^{Aa}	0.46 ± 0.03^{Ba}	0.24 ± 0.01^{Ca}
Glucose	GLU	16.97 ± 0.03^{Aa}	5.82 ± 0.03^{Ba}	1.07 ± 0.05^{Ca}	13.87 ± 2.39^{Aa}	2.95 ± 0.50^{Ba}	1.07 ± 0.02^{Ba}	13.75 ± 2.08^{Aa}	5.67 ± 0.92^{Ba}	0.91 ± 0.05^{Ca}
	FOS	3.61 ± 0.03^{Ab}	1.38 ± 0.04^{Bb}	1.31 ± 0.01^{Bbc}	3.48 ± 0.10^{Ab}	1.37 ± 0.01^{Ba}	1.14 ± 0.03^{Ba}	3.62 ± 0.00^{Ab}	0.46 ± 0.65^{Bb}	1.05 ± 0.01^{Ba}
	PR	1.19 ± 0.14^{Ac}	1.16 ± 0.04^{Ac}	1.16 ± 0.01^{Aab}	1.26 ± 0.10^{Ac}	1.05 ± 0.25^{Aa}	1.09 ± 0.02^{Aa}	1.49 ± 0.02^{Ac}	0.90 ± 0.01^{Ab}	1.17 ± 0.02^{Aa}
	GR	1.41 ± 0.00^{Ad}	1.07 ± 0.13^{Bc}	0.96 ± 0.09^{Bc}	1.36 ± 0.07^{Abc}	0.90 ± 0.18^{Aa}	0.80 ± 0.32^{Aa}	1.54 ± 0.02^{Ac}	1.21 ± 0.06^{Ab}	1.18 ± 0.02^{Aa}
Fructose	GLU	1.18 ± 0.01^{Aa}	NF	NF	0.18 ± 0.26^{Ab}	NF	NF	2.67 ± 0.47^{Aa}	NF	NF
	FOS	7.07 ± 0.08^{Ab}	4.07 ± 0.20^{Ba}	0.77 ± 0.00^{Ca}	5.59 ± 1.57^{Aa}	1.60 ± 0.37^{Ba}	NF	3.56 ± 0.91^{Aa}	5.00 ± 1.46^{Ba}	2.13 ± 0.02^{Ca}
	PR	0.53 ± 0.08^{Ac}	NF	NF	0.54 ± 0.05^{Ab}	NF	NF	0.72 ± 0.02^{Ab}	NF	NF
	GR	0.96 ± 0.00^{Ad}	NF	NF	0.82 ± 0.06^{Ab}	NF	NF	1.02 ± 0.03^{Ab}	0.38 ± 0.02^{Ab}	NF

A–C: diferent superscript capital letters in the same column for the same sugars at different cultivation time for each tested isolated denote differences ($p \leq 0.05$), based on Tukey's test; a–c: different superscript small letters in the same row and different measured sugars for each isolate among media with GLU, FOS, PR and GR denote difference, based on Tukey's test ($p \leq 0.05$). NF: not found; GLU: glucose; FOS: fructooligosaccharides; PR: puçá residue; GR: gabiroba residue.

Table 5. Contents (g.L^{-1}) of organic acids in media with glucose (20 g.L^{-1}), fructooligosaccharides (20 g.L^{-1}), puçá residue (20 g.L^{-1}), and gabiroba residue (20 g.L^{-1}) inoculated with *L. acidophilus*, *L. casei* and *B. animalis* during 48 h of incubation.

Organic acids	Carbon source	Strains					
		L. acidophilus		*L. casei*		*B. animalis*	
		18 h	48 h	18 h	48 h	18 h	48 h
Citric	GLU	1.32 ± 0.24^{Ab}	1.33 ± 0.07^{Ab}	1.28 ± 0.40^{Aa}	1.22 ± 0.03^{Aa}	1.47 ± 0.26^{Aab}	0.95 ± 0.01^{Bb}
	FOS	1.12 ± 0.05^{Ab}	1.07 ± 0.01^{Ab}	0.70 ± 0.17^{Aab}	1.02 ± 0.03^{Aa}	1.14 ± 0.30^{Ab}	NF
	PR	0.51 ± 0.02^{Ac}	NF	0.42 ± 0.12^{Ab}	0.02 ± 0.03^{Ab}	1.34 ± 0.02^{Ab}	0.55 ± 0.00^{Ba}
	GR	1.75 ± 0.24^{Aa}	1.53 ± 0.18^{Aa}	1.35 ± 0.27^{Aa}	1.21 ± 0.49^{Aa}	1.92 ± 0.10^{Aa}	1.94 ± 0.04^{Aa}
Malic	GLU	0.40 ± 0.00^{Aa}	0.38 ± 0.02^{Aa}	0.26 ± 0.05^{Aa}	0.39 ± 0.01^{Ba}	0.35 ± 0.07^{Aa}	0.27 ± 0.00^{Ba}
	FOS	0.25 ± 0.01^{Ab}	0.32 ± 0.00^{Bb}	0.10 ± 0.03^{Ab}	0.18 ± 0.01^{Bb}	0.37 ± 0.01^{Aa}	0.22 ± 0.00^{Ba}
	PR	0.10 ± 0.00^{Ac}	0.08 ± 0.02^{Ac}	0.08 ± 0.02^{Ab}	0.08 ± 0.00^{Ac}	0.08 ± 0.03^{Ab}	0.08 ± 0.02^{Ab}
	GR	0.08 ± 0.02^{Ac}	0.06 ± 0.01^{Ac}	0.05 ± 0.01^{Ab}	0.03 ± 0.05^{Ac}	0.08 ± 0.01^{Ab}	0.08 ± 0.00^{Ab}
Succinic	GLU	1.22 ± 0.01^{Ab}	1.25 ± 0.06^{Ab}	0.47 ± 0.06^{Ab}	0.55 ± 0.02^{Aab}	0.53 ± 0.08^{Ab}	0.40 ± 0.01^{Ba}
	FOS	1.19 ± 0.06^{Ab}	1.31 ± 0.01^{Ab}	0.24 ± 0.11^{Ab}	0.44 ± 0.02^{Ab}	0.42 ± 0.10^{Ab}	0.85 ± 0.00^{Ba}
	PR	2.38 ± 0.07^{Aa}	1.83 ± 0.02^{Ba}	0.39 ± 0.05^{Ab}	0.46 ± 0.03^{Ab}	0.47 ± 0.01^{Ab}	0.73 ± 0.03^{Ba}
	GR	1.37 ± 0.20^{Ab}	1.18 ± 0.13^{Ab}	1.09 ± 0.21^{Aa}	0.98 ± 0.37^{Aa}	0.87 ± 0.04^{Aa}	0.83 ± 0.02^{Ab}
Lactic	GLU	19.80 ± 0.03^{Aa}	26.14 ± 1.38^{Ba}	19.32 ± 2.77^{Aa}	25.92 ± 0.53^{Ba}	14.97 ± 2.53^{Aa}	15.69 ± 0.16^{Ab}
	FOS	21.32 ± 0.70^{Aa}	27.77 ± 0.31^{Ba}	13.54 ± 3.27^{Ab}	24.86 ± 0.79^{Ba}	2.21 ± 0.51^{Ab}	24.58 ± 0.25^{Ba}
	PR	3.03 ± 0.15^{Ab}	3.08 ± 0.03^{Ab}	2.76 ± 0.66^{Ac}	2.61 ± 0.03^{Ab}	2.14 ± 0.03^{Ab}	2.48 ± 0.07^{Ac}
	GR	2.84 ± 0.37^{Ab}	2.51 ± 0.25^{Ab}	2.06 ± 0.37^{Ac}	1.98 ± 0.82^{Ab}	2.32 ± 0.14^{Ab}	3.16 ± 0.05^{Ac}
Formic	GLU	NF	NF	NF	NF	0.42 ± 0.59^{Aa}	0.54 ± 0.12^{Aa}
	FOS	NF	NF	NF	NF	0.36 ± 0.12^{Aa}	0.40 ± 0.56^{Aa}
	PR	0.29 ± 0.01^{Aa}	0.32 ± 0.00^{Aa}	0.31 ± 0.08^{Aa}	0.32 ± 0.01^{Aa}	0.72 ± 0.01^{Aa}	0.42 ± 0.12^{Aa}
	GR	0.19 ± 0.04^{Ab}	0.16 ± 0.02^{Ab}	0.13 ± 0.03^{Ab}	0.12 ± 0.07^{Ab}	0.21 ± 0.02^{Aa}	0.22 ± 0.00^{Aa}
Acetic	GLU	2.52 ± 0.07^{Ab}	2.04 ± 0.67^{Aa}	2.29 ± 0.43^{Aab}	2.62 ± 0.04^{Aab}	2.46 ± 0.10^{Aa}	2.01 ± 0.11^{Ab}
	FOS	2.53 ± 0.01^{Ab}	2.52 ± 0.01^{Aa}	1.68 ± 0.33^{Ab}	2.51 ± 0.06^{Aab}	2.18 ± 0.48^{Aa}	4.21 ± 1.26^{Ba}
	PR	3.51 ± 0.18^{Aa}	3.73 ± 0.03^{Ab}	3.45 ± 0.76^{Aa}	3.74 ± 0.09^{Aa}	2.61 ± 0.10^{Aa}	4.06 ± 0.38^{Ba}
	GR	2.42 ± 0.30^{Ab}	2.21 ± 0.20^{Aa}	1.93 ± 0.39^{Ab}	1.76 ± 0.70^{Ab}	2.55 ± 0.12^{Aa}	2.63 ± 0.05^{Aab}
Propionic	GLU	0.46 ± 0.00^{Aa}	0.57 ± 0.02^{Aa}	0.36 ± 0.08^{Abc}	0.63 ± 0.01^{Ab}	0.46 ± 0.10^{Ac}	0.31 ± 0.00^{Ac}
	FOS	0.42 ± 0.01^{Aa}	0.55 ± 0.00^{Aa}	0.24 ± 0.06^{Ac}	0.69 ± 0.02^{Ab}	1.01 ± 0.27^{Ab}	0.47 ± 0.01^{Bc}
	PR	1.85 ± 0.07^{Ab}	3.13 ± 0.04^{Bb}	2.41 ± 0.63^{Aa}	3.07 ± 0.06^{Aa}	1.04 ± 0.00^{Ab}	1.77 ± 0.03^{Bb}
	GR	1.50 ± 0.20^{Ac}	1.46 ± 0.15^{Ac}	1.21 ± 0.24^{Ab}	1.20 ± 0.48^{Aa}	2.46 ± 0.14^{Aa}	2.63 ± 0.05^{Aa}

A–C: diferent superscript capital letters in the same column for the same organic acid at different cultivation time for each tested isolated denote differences ($p \leq 0.05$), based on Tukey's test; a–c: different superscript small letters in the same row and different measured organic acids for each isolate among media with GLU, FOS, PR and GR denote difference, based on Tukey's test ($p \leq 0.05$). NF: not found; GLU: glucose; FOS: fructooligosaccharides; PR: puçá residue; GR: gabiroba residue.

CONCLUSÕES

Os resultados deste estudo mostraram que os resíduos de puçá e gabiroba apresentam características nutricionais relevantes para a promoção da saúde humana. Os resíduos estudados também apresentaram propriedades prebióticas potenciais para cepas probióticas reconhecidas. O resíduo liofilizado de gabiroba mostrou os maiores escores de atividade prebiótica e os maiores efeitos de crescimento para *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* quando comparado a um prebiótico reconhecido (FOS) e glicose. Os compostos fenólicos de ambos os resíduos podem estar envolvidos no mecanismo de atividade prebiótica positiva observada. Esses achados demonstram que os resíduos de puçá e gabiroba possuem potencial industrial para serem utilizados como ingrediente para produtos alimentícios funcionais. Espera-se que esses resultados estimulem a indústria a valorizar os resíduos desses frutos e reduzir os impactos negativos ao meio ambiente causados pelo seu descarte.

ANEXOS

ANEXO A – Instruções aos autores do periódico

Food Research International is the successor to the Canadian Institute of Food Science and Technology Journal. Building on the quality and strengths of its predecessor, *Food Research International* has been developed to create a truly international forum for the communication of research in food science.

Food Research International provides a forum for the rapid dissemination of significant novel and high impact research in food science, technology, engineering and nutrition. The journal only publishes novel, high quality and high impact review papers, original research papers and letters to the editors, in the various disciplines encompassing the science and technology of food. It is journal policy to publish special issues on topical and emergent subjects of food research or food research-related areas. Special issues of selected, peer-reviewed papers from scientific meetings, workshops, conferences on the science, technology and engineering of foods will be also published.

Food Research International does not publish papers with a product development emphasis, statistical optimizations of processes or surveys. This is based on the editorial policy of the journal to publish more fundamental work with a strong quantitative emphasis and of a general nature.

Topics covered by the journal include:

- Emerging Technologies
- Sensory Aspects of Foods
- Food Toxicology
- Food Chemistry and Analysis
- Food Omics
- Nutrition, health and food digestion
- Food Engineering and Materials Science of Foods
- Functional Foods
- Food Microbiology, Safety and Quality

Please also refer to the list of subjects not considered in *Food Research International* before you submit your paper. These topics can be found in the full aims and scope of the journal.

Types of paper

1. Research papers - original full-length research papers which have not been published previously, except in a preliminary form, and should not exceed 6,000 words. The word count refers to the text of the manuscript per se, i.e., references, figures and tables are not considered.
2. Review articles - will be accepted in all areas of food science covered by the scope of the journal. Review articles focused on recent literature published (for example, over the previous 2-5 years) as well as comprehensive and definitive reviews will be considered.Review papers must contain critical assessment of literature and may

also contains author's views on the subject. There are no word counts and reference numbers limit for review papers.
3. Short communications - Food Research International does not publish short communication papers.
4. Letters to the Editor - Letters are published from time to time on matters of topical interest.
5. Book Reviews

Food Research International is concerned with safeguarding the rights and welfare of animals and human research subjects. Authors must provide a letter with the approval from the ethics committee from the respective University or research center where the study was performed.

The list of references must be as updated as possible. Making reference to recent work in the field is particularly key to highlight the current context of the manuscript and to make it more comprehensive, to highlight the novelty to the readers as well as its contribution to the field.

Contact details for submission

Submission for all types of manuscripts to *Food Research International* proceeds totally online. Via the Editorial Manager (EM) website for this journal, https://www.editorialmanager.com/foodres/default.aspx, you will be guided step-by-step through the creation and uploading of the various files.

Questions regarding content of a proposed submission can be directed to: foodresearchinternational@gmail.com.

Submission checklist
You can use this list to carry out a final check of your submission before you send it to the journal for review. Please check the relevant section in this Guide for Authors for more details.

Ensure that the following items are present:

One author has been designated as the corresponding author with contact details:
• E-mail address
• Full postal address

All necessary files have been uploaded:
Cover Letter, clearly stating the novelty of your research
Manuscript:
• Include keywords
• All figures (include relevant captions)
• All tables (including titles, description, footnotes)
• Ensure all figure and table citations in the text match the files provided
• Indicate clearly if color should be used for any figures in print
Graphical Abstracts / Highlights files (where applicable)
Supplemental files (where applicable)

Further considerations
• Manuscript has been 'spell checked' and 'grammar checked'
• All references mentioned in the Reference List are cited in the text, and vice versa
• Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Internet)
• A competing interests statement is provided, even if the authors have no competing interests to declare
• Journal policies detailed in this guide have been reviewed
• Referee suggestions and contact details provided, based on journal requirements

For further information, visit our Support Center.

Before You Begin

Ethics in publishing

Please see our information on Ethics in publishing.

Studies in humans and animals

If the work involves the use of human subjects, the author should ensure that the work described has been carried out in accordance with The Code of Ethics of the World Medical Association (Declaration of Helsinki) for experiments involving humans. The manuscript should be in line with the Recommendations for the Conduct, Reporting, Editing and Publication of Scholarly Work in Medical Journals and aim for the inclusion of representative human populations (sex, age and ethnicity) as per those recommendations. The terms sex and gender should be used correctly.

Authors should include a statement in the manuscript that informed consent was obtained for experimentation with human subjects. The privacy rights of human subjects must always be observed.

All animal experiments should comply with the ARRIVE guidelines and should be carried out in accordance with the U.K. Animals (Scientific Procedures) Act, 1986 and associated guidelines, EU Directive 2010/63/EU for animal experiments, or the National Institutes of Health guide for the care and use of Laboratory animals (NIH Publications No. 8023, revised 1978) and the authors should clearly indicate in the manuscript that such guidelines have been followed. The sex of animals must be indicated, and where appropriate, the influence (or association) of sex on the results of the study.

Declaration of interest

All authors must disclose any financial and personal relationships with other people or organizations that could inappropriately influence (bias) their work. Examples of potential competing interests include employment, consultancies, stock ownership, honoraria, paid expert testimony, patent applications/registrations, and grants or other funding. Authors must disclose any interests in two places: 1. A summary

declaration of interest statement in the title page file (if double anonymized) or the manuscript file (if single anonymized). If there are no interests to declare then please state this: 'Declarations of interest: none'. 2. Detailed disclosures as part of a separate Declaration of Interest form, which forms part of the journal's official records. It is important for potential interests to be declared in both places and that the information matches. More information.

Submission declaration and verification

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract, a published lecture or academic thesis, see 'Multiple, redundant or concurrent publication' for more information), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright-holder. To verify originality, your article may be checked by the originality detection service Crossref Similarity Check.

Preprints

Please note that preprints can be shared anywhere at any time, in line with Elsevier's sharing policy. Sharing your preprints e.g. on a preprint server will not count as prior publication (see 'Multiple, redundant or concurrent publication' for more information).

Use of inclusive language

Inclusive language acknowledges diversity, conveys respect to all people, is sensitive to differences, and promotes equal opportunities. Content should make no assumptions about the beliefs or commitments of any reader; contain nothing which might imply that one individual is superior to another on the grounds of age, gender, race, ethnicity, culture, sexual orientation, disability or health condition; and use inclusive language throughout. Authors should ensure that writing is free from bias, stereotypes, slang, reference to dominant culture and/or cultural assumptions. We advise to seek gender neutrality by using plural nouns ("clinicians, patients/clients") as default/wherever possible to avoid using "he, she," or "he/she." We recommend avoiding the use of descriptors that refer to personal attributes such as age, gender, race, ethnicity, culture, sexual orientation, disability or health condition unless they are relevant and valid. These guidelines are meant as a point of reference to help identify appropriate language but are by no means exhaustive or definitive.

Author contributions

For transparency, we encourage authors to submit an author statement file outlining their individual contributions to the paper using the relevant CRediT roles: Conceptualization; Data curation; Formal analysis; Funding acquisition; Investigation; Methodology; Project administration; Resources; Software; Supervision; Validation; Visualization; Roles/Writing - original draft; Writing - review & editing. Authorship statements should be formatted with the names of authors first and CRediT role(s) following. More details and an example

Changes to authorship

Authors are expected to consider carefully the list and order of authors **before** submitting their manuscript and provide the definitive list of authors at the time of the original submission. Any addition, deletion or rearrangement of author names in the authorship list should be made only **before** the manuscript has been accepted and only if approved by the journal Editor. To request such a change, the Editor must receive the following from the **corresponding author**: (a) the reason for the change in author list and (b) written confirmation (e-mail, letter) from all authors that they agree with the addition, removal or rearrangement. In the case of addition or removal of authors, this includes confirmation from the author being added or removed.
Only in exceptional circumstances will the Editor consider the addition, deletion or rearrangement of authors **after** the manuscript has been accepted. While the Editor considers the request, publication of the manuscript will be suspended. If the manuscript has already been published in an online issue, any requests approved by the Editor will result in a corrigendum.

Article transfer service

This journal is part of our Article Transfer Service. This means that if the Editor feels your article is more suitable in one of our other participating journals, then you may be asked to consider transferring the article to one of those. If you agree, your article will be transferred automatically on your behalf with no need to reformat. Please note that your article will be reviewed again by the new journal. More information.

Copyright

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'Journal Publishing Agreement' (see more information on this). An e-mail will be sent to the corresponding author confirming receipt of the manuscript together with a 'Journal Publishing Agreement' form or a link to the online version of this agreement.

Subscribers may reproduce tables of contents or prepare lists of articles including abstracts for internal circulation within their institutions. Permission of the Publisher is required for resale or distribution outside the institution and for all other derivative works, including compilations and translations. If excerpts from other copyrighted works are included, the author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has preprinted forms for use by authors in these cases.

For gold open access articles: Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'License Agreement' (more information). Permitted third party reuse of gold open access articles is determined by the author's choice of user license.

Author rights

As an author you (or your employer or institution) have certain rights to reuse your work. More information.

Elsevier supports responsible sharing

Find out how you can share your research published in Elsevier journals.

Role of the funding source

You are requested to identify who provided financial support for the conduct of the research and/or preparation of the article and to briefly describe the role of the sponsor(s), if any, in study design; in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the report; and in the decision to submit the article for publication. If the funding source(s) had no such involvement then this should be stated.

Open access

Please visit our Open Access page for more information.

Elsevier Researcher Academy

Researcher Academy is a free e-learning platform designed to support early and mid-career researchers throughout their research journey. The "Learn" environment at Researcher Academy offers several interactive modules, webinars, downloadable guides and resources to guide you through the process of writing for research and going through peer review. Feel free to use these free resources to improve your submission and navigate the publication process with ease.

Language (usage and editing services)

Please write your text in good English (American or British usage is accepted, but not a mixture of these). Authors who feel their English language manuscript may require editing to eliminate possible grammatical or spelling errors and to conform to correct scientific English may wish to use the English Language Editing service available from Elsevier's Author Services.

Submission

Our online submission system guides you stepwise through the process of entering your article details and uploading your files. The system converts your article files to a single PDF file used in the peer-review process. Editable files (e.g., Word, LaTeX) are required to typeset your article for final publication. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision, is sent by e-mail.

Authors must provide and use an email address unique to themselves and not shared with another author registered in EM, or a department. It is mandatory to upload a Cover Letter together with your manuscript that explain in details the novelty of your research and why it is suitable for Food Research International. If the novelty of your research is not clear, the paper can be rejected by the editors or reviewers.

Referees

Please submit the names and institutional e-mail addresses of several potential referees. For more details, visit our Support site. Note that the editor retains the sole right to decide whether or not the suggested reviewers are used.

Preparation

Peer review

This journal operates a single anonymized review process. All contributions will be initially assessed by the editor for suitability for the journal. Papers deemed suitable are then typically sent to a minimum of two independent expert reviewers to assess the scientific quality of the paper. The Editor is responsible for the final decision regarding acceptance or rejection of articles. The Editor's decision is final. Editors are not involved in decisions about papers which they have written themselves or have been written by family members or colleagues or which relate to products or services in which the editor has an interest. Any such submission is subject to all of the journal's usual procedures, with peer review handled independently of the relevant editor and their research groups. More information on types of peer review.

Use of word processing software

It is important that the file be saved in the native format of the word processor used. The text should be in single-column format. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. In particular, do not use the word processor's options to justify text or to hyphenate words. However, do use bold face, italics, subscripts, superscripts etc. When preparing tables, if you are using a table grid, use only one grid for each individual table and not a grid for each row. If no grid is used, use tabs, not spaces, to align columns. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the Guide to Publishing with Elsevier). Note that source files of figures, tables and text graphics will be required whether or not you embed your figures in the text. See also the section on Electronic artwork.
To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the 'spell-check' and 'grammar-check' functions of your word processor.

All pages of the manuscript must be numbered. All lines must be numbered continuously throughout the manuscript.

General: Manuscripts must be typewritten, with 2 cm margins. Each page must be numbered, and lines must be consecutively numbered from the start to the end of the manuscript. Good quality printouts with a font size of 12 or 10 pt are required. The corresponding author should be identified (include a valid E-mail address). Full postal and email addresses must be given for all co-authors. Authors should consult a recent issue of the journal for style if possible. The Editors reserve the right to adjust style to certain standards of uniformity. **Article structure**

Subdivision - numbered sections

Divide your article into clearly defined and numbered sections. Subsections should be numbered 1.1 (then 1.1.1, 1.1.2, ...), 1.2, etc. (the abstract is not included in section numbering). Use this numbering also for internal cross-referencing: do not just refer to 'the text'. Any subsection may be given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line.

Introduction

State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results.

Material and methods
Provide sufficient details to allow the work to be reproduced by an independent researcher. Methods that are already published should be summarized, and indicated by a reference. If quoting directly from a previously published method, use quotation marks and also cite the source. Any modifications to existing methods should also be described.

Theory/calculation
A Theory section should extend, not repeat, the background to the article already dealt with in the Introduction and lay the foundation for further work. In contrast, a Calculation section represents a practical development from a theoretical basis.

Authors are encouraged to read the helpful notes on statistics applied in the planning of experiments and assessment of results in the field of food science and technology. The more important univariate and bivariate parametric and non-parametric methods, their advantages and disadvantages are presented in "Observations on the use of statistical methods in Food Science and Technology by Granato (http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996913005723).

Follow this order when typing manuscripts: Title, Authors, Affiliations, Abstract, Keywords, Main text (Introduction, Material and Methods, Results, Conclusion), Acknowledgements, Appendix, References. The corresponding author should be identified with an asterisk and footnote. All other footnotes (except for table footnotes) should be identified with superscript Arabic numbers. The title of the paper should unambiguously reflect its contents. ***Results***
Results should be clear and concise.

Discussion
This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. A combined Results and Discussion section is often appropriate. Avoid extensive citations and discussion of published literature.

Conclusions
The main conclusions of the study may be presented in a short Conclusions section, which may stand alone or form a subsection of a Discussion or Results and Discussion section.

Appendices
If there is more than one appendix, they should be identified as A, B, etc. Formulae and equations in appendices should be given separate numbering: Eq. (A.1), Eq. (A.2), etc.; in a subsequent appendix, Eq. (B.1) and so on. Similarly for tables and figures: Table A.1; Fig. A.1, etc.

Essential title page information

• ***Title.*** Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.
• ***Author names and affiliations.*** Please clearly indicate the given name(s) and family name(s) of each author and check that all names are accurately spelled. You can add your name between parentheses in your own script behind the English

transliteration. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.
• ***Corresponding author.*** Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. This responsibility includes answering any future queries about Methodology and Materials. **Ensure that the e-mail address is given and that contact details are kept up to date by the corresponding author.**
• ***Present/permanent address.*** If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

Highlights

Highlights are mandatory for this journal as they help increase the discoverability of your article via search engines. They consist of a short collection of bullet points that capture the novel results of your research as well as new methods that were used during the study (if any). Please have a look at the examples here: example Highlights.

Highlights should be submitted in a separate editable file in the online submission system. Please use 'Highlights' in the file name and include 3 to 5 bullet points (maximum 85 characters, including spaces, per bullet point).

Abstract

A concise and factual abstract is required. The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major conclusions. An abstract is often presented separately from the article, so it must be able to stand alone. For this reason, References should be avoided, but if essential, then cite the author(s) and year(s). Also, non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself.

Graphical abstract

A graphical abstract is mandatory for this journal. It should summarize the contents of the article in a concise, pictorial form designed to capture the attention of a wide readership online. Authors must provide images that clearly represent the work described in the article. Graphical abstracts should be submitted as a separate file in the online submission system. Image size: please provide an image with a minimum of 531 × 1328 pixels (h × w) or proportionally more. The image should be readable at a size of 5 × 13 cm using a regular screen resolution of 96 dpi. Preferred file types: TIFF, EPS, PDF or MS Office files. You can view Example Graphical Abstracts on our information site.
Authors can make use of Elsevier's Illustration Services to ensure the best presentation of their images also in accordance with all technical requirements.

Keywords
Immediately after the abstract, provide at least 6 keywords (maximum allowed: 12 keywords), using American spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, 'and', 'of'). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. **Keywords must be different from title to enhance searchability and findability**. These keywords will be used for indexing purposes.

Abbreviations
Define abbreviations that are not standard in this field in a footnote to be placed on the first page of the article. Such abbreviations that are unavoidable in the abstract must be defined at their first mention there, as well as in the footnote. Ensure consistency of abbreviations throughout the article.

Acknowledgements
Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.).

Formatting of funding sources
List funding sources in this standard way to facilitate compliance to funder's requirements:

Funding: This work was supported by the National Institutes of Health [grant numbers xxxx, yyyy]; the Bill & Melinda Gates Foundation, Seattle, WA [grant number zzzz]; and the United States Institutes of Peace [grant number aaaa].

It is not necessary to include detailed descriptions on the program or type of grants and awards. When funding is from a block grant or other resources available to a university, college, or other research institution, submit the name of the institute or organization that provided the funding.

If no funding has been provided for the research, please include the following sentence:

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Units
Follow internationally accepted rules and conventions: use the international system of units (SI). If other units are mentioned, please give their equivalent in SI.

Math formulae
Please submit math equations as editable text and not as images. Present simple formulae in line with normal text where possible and use the solidus (/) instead of a horizontal line for small fractional terms, e.g., X/Y. In principle, variables are to be presented in italics. Powers of e are often more conveniently denoted by exp. Number consecutively any equations that have to be displayed separately from the text (if referred to explicitly in the text).

Footnotes

Footnotes should be used sparingly. Number them consecutively throughout the article. Many word processors can build footnotes into the text, and this feature may be used. Otherwise, please indicate the position of footnotes in the text and list the footnotes themselves separately at the end of the article. Do not include footnotes in the Reference list.

Artwork

Image manipulation

Whilst it is accepted that authors sometimes need to manipulate images for clarity, manipulation for purposes of deception or fraud will be seen as scientific ethical abuse and will be dealt with accordingly. For graphical images, this journal is applying the following policy: no specific feature within an image may be enhanced, obscured, moved, removed, or introduced. Adjustments of brightness, contrast, or color balance are acceptable if and as long as they do not obscure or eliminate any information present in the original. Nonlinear adjustments (e.g. changes to gamma settings) must be disclosed in the figure legend.

Electronic artwork

General points

• Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
• Embed the used fonts if the application provides that option.
• Aim to use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Times New Roman, Symbol, or use fonts that look similar.
• Number the illustrations according to their sequence in the text.
• Use a logical naming convention for your artwork files.
• Provide captions to illustrations separately.
• Size the illustrations close to the desired dimensions of the published version.
• Submit each illustration as a separate file.
• Ensure that color images are accessible to all, including those with impaired color vision.

A detailed guide on electronic artwork is available.
You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.

Formats

If your electronic artwork is created in a Microsoft Office application (Word, PowerPoint, Excel) then please supply 'as is' in the native document format.
Regardless of the application used other than Microsoft Office, when your electronic artwork is finalized, please 'Save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):
EPS (or PDF): Vector drawings, embed all used fonts.
TIFF (or JPEG): Color or grayscale photographs (halftones), keep to a minimum of 300 dpi.
TIFF (or JPEG): Bitmapped (pure black & white pixels) line drawings, keep to a minimum of 1000 dpi.
TIFF (or JPEG): Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale), keep to a minimum of 500 dpi.

Please do not:
• Supply files that are optimized for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); these typically have a low number of pixels and limited set of colors;
• Supply files that are too low in resolution;
• Submit graphics that are disproportionately large for the content.

Color artwork
Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF (or JPEG), EPS (or PDF), or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color online (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in color in the printed version. **For color reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article**. Please indicate your preference for color: in print or online only. Further information on the preparation of electronic artwork.

Figure captions
Ensure that each illustration has a caption. Supply captions separately, not attached to the figure. A caption should comprise a brief title (**not** on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

Tables
Please submit tables as editable text and not as images. Tables must be placed on separate page(s) at the end of the manuscript. Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text and place any table notes below the table body. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in them do not duplicate results described elsewhere in the article. Please avoid using vertical rules.

References

Citation in text
Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Any references cited in the abstract must be given in full. Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text. If these references are included in the reference list they should follow the standard reference style of the journal and should include a substitution of the publication date with either 'Unpublished results' or 'Personal communication'. Citation of a reference as 'in press' implies that the item has been accepted for publication.

The list of references must be as updated as possible. Making reference to recent work in the field is particularly key to highlight the current context of the manuscript and to make it more comprehensive, to highlight the novelty to the readers as well as its contribution to the field.

Web references
As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was

last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list.

Data references
This journal encourages you to cite underlying or relevant datasets in your manuscript by citing them in your text and including a data reference in your Reference List. Data references should include the following elements: author name(s), dataset title, data repository, version (where available), year, and global persistent identifier. Add [dataset] immediately before the reference so we can properly identify it as a data reference. The [dataset] identifier will not appear in your published article.

References in a special issue
Please ensure that the words 'this issue' are added to any references in the list (and any citations in the text) to other articles in the same Special Issue.

Reference management software
Most Elsevier journals have their reference template available in many of the most popular reference management software products. These include all products that support Citation Style Language styles, such as Mendeley. Using citation plug-ins from these products, authors only need to select the appropriate journal template when preparing their article, after which citations and bibliographies will be automatically formatted in the journal's style. If no template is yet available for this journal, please follow the format of the sample references and citations as shown in this Guide. If you use reference management software, please ensure that you remove all field codes before submitting the electronic manuscript. More information on how to remove field codes from different reference management software.

Users of Mendeley Desktop can easily install the reference style for this journal by clicking the following link:
http://open.mendeley.com/use-citation-style/food-research-international
When preparing your manuscript, you will then be able to select this style using the Mendeley plug-ins for Microsoft Word or LibreOffice.

Reference style
Text: Citations in the text should follow the referencing style used by the American Psychological Association. You are referred to the Publication Manual of the American Psychological Association, Seventh Edition, ISBN 978-1-4338-3215-4, copies of which may be ordered online.
List: references should be arranged first alphabetically and then further sorted chronologically if necessary. More than one reference from the same author(s) in the same year must be identified by the letters 'a', 'b', 'c', etc., placed after the year of publication.
Examples:
Reference to a journal publication:
Van der Geer, J., Hanraads, J. A. J., & Lupton, R. A. (2010). The art of writing a scientific article. *Journal of Scientific Communications, 163*, 51–59. https://doi.org/10.1016/j.sc.2010.00372.

Reference to a journal publication with an article number:
Van der Geer, J., Hanraads, J. A. J., & Lupton, R. A. (2018). The art of writing a scientific article. *Heliyon*, *19*, Article e00205. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2018.e00205.
Reference to a book:
Strunk, W., Jr., & White, E. B. (2000). *The elements of style* (4th ed.). Longman (Chapter 4).
Reference to a chapter in an edited book:
Mettam, G. R., & Adams, L. B. (2009). How to prepare an electronic version of your article. In B. S. Jones, & R. Z. Smith (Eds.), *Introduction to the electronic age* (pp. 281–304). E-Publishing Inc.
Reference to a website:
Powertech Systems. (2015). *Lithium-ion vs lead-acid cost analysis*. Retrieved from http://www.powertechsystems.eu/home/tech-corner/lithium-ion-vs-lead-acid-cost-analysis/. Accessed January 6, 2016
Reference to a dataset:
[dataset] Oguro, M., Imahiro, S., Saito, S., & Nakashizuka, T. (2015). *Mortality data for Japanese oak wilt disease and surrounding forest compositions*. Mendeley Data, v1. https://doi.org/10.17632/xwj98nb39r.1.
Reference to a conference paper or poster presentation:
Engle, E.K., Cash, T.F., & Jarry, J.L. (2009, November). *The Body Image Behaviours Inventory-3: Development and validation of the Body Image Compulsive Actions and Body Image Avoidance Scales*. Poster session presentation at the meeting of the Association for Behavioural and Cognitive Therapies, New York, NY.
Reference to software:
Coon, E., Berndt, M., Jan, A., Svyatsky, D., Atchley, A., Kikinzon, E., Harp, D., Manzini, G., Shelef, E., Lipnikov, K., Garimella, R., Xu, C., Moulton, D., Karra, S., Painter, S., Jafarov, E., & Molins, S. (2020, March 25). *Advanced Terrestrial Simulator (ATS) v0.88 (Version 0.88)*. Zenodo. https://doi.org/10.5281/zenodo.3727209.

Video

Elsevier accepts video material and animation sequences to support and enhance your scientific research. Authors who have video or animation files that they wish to submit with their article are strongly encouraged to include links to these within the body of the article. This can be done in the same way as a figure or table by referring to the video or animation content and noting in the body text where it should be placed. All submitted files should be properly labeled so that they directly relate to the video file's content. In order to ensure that your video or animation material is directly usable, please provide the file in one of our recommended file formats with a preferred maximum size of 150 MB per file, 1 GB in total. Video and animation files supplied will be published online in the electronic version of your article in Elsevier Web products, including ScienceDirect. Please supply 'stills' with your files: you can choose any frame from the video or animation or make a separate image. These will be used instead of standard icons and will personalize the link to your video data. For more detailed instructions please visit our video instruction pages. Note: since video and animation cannot be embedded in the print version of the journal, please provide text for both the electronic and the print version for the portions of the article that refer to this content.

Data visualization

Include interactive data visualizations in your publication and let your readers interact and engage more closely with your research. Follow the instructions here to find out about available data visualization options and how to include them with your article.

Supplementary material

Supplementary material such as applications, images and sound clips, can be published with your article to enhance it. Submitted supplementary items are published exactly as they are received (Excel or PowerPoint files will appear as such online). Please submit your material together with the article and supply a concise, descriptive caption for each supplementary file. If you wish to make changes to supplementary material during any stage of the process, please make sure to provide an updated file. Do not annotate any corrections on a previous version. Please switch off the 'Track Changes' option in Microsoft Office files as these will appear in the published version.

Research data

This journal encourages and enables you to share data that supports your research publication where appropriate, and enables you to interlink the data with your published articles. Research data refers to the results of observations or experimentation that validate research findings. To facilitate reproducibility and data reuse, this journal also encourages you to share your software, code, models, algorithms, protocols, methods and other useful materials related to the project.

Below are a number of ways in which you can associate data with your article or make a statement about the availability of your data when submitting your manuscript. If you are sharing data in one of these ways, you are encouraged to cite the data in your manuscript and reference list. Please refer to the "References" section for more information about data citation. For more information on depositing, sharing and using research data and other relevant research materials, visit the research data page.

Data linking

If you have made your research data available in a data repository, you can link your article directly to the dataset. Elsevier collaborates with a number of repositories to link articles on ScienceDirect with relevant repositories, giving readers access to underlying data that gives them a better understanding of the research described.

There are different ways to link your datasets to your article. When available, you can directly link your dataset to your article by providing the relevant information in the submission system. For more information, visit the database linking page.

For supported data repositories a repository banner will automatically appear next to your published article on ScienceDirect.

In addition, you can link to relevant data or entities through identifiers within the text of your manuscript, using the following format: Database: xxxx (e.g., TAIR: AT1G01020; CCDC: 734053; PDB: 1XFN).

Mendeley Data
This journal supports Mendeley Data, enabling you to deposit any research data (including raw and processed data, video, code, software, algorithms, protocols, and methods) associated with your manuscript in a free-to-use, open access repository. During the submission process, after uploading your manuscript, you will have the opportunity to upload your relevant datasets directly to *Mendeley Data*. The datasets will be listed and directly accessible to readers next to your published article online.

For more information, visit the Mendeley Data for journals page.

Data statement
To foster transparency, we encourage you to state the availability of your data in your submission. This may be a requirement of your funding body or institution. If your data is unavailable to access or unsuitable to post, you will have the opportunity to indicate why during the submission process, for example by stating that the research data is confidential. The statement will appear with your published article on ScienceDirect. For more information, visit the Data Statement page.

After Acceptance

Online proof correction

To ensure a fast publication process of the article, we kindly ask authors to provide us with their proof corrections within two days. Corresponding authors will receive an e-mail with a link to our online proofing system, allowing annotation and correction of proofs online. The environment is similar to MS Word: in addition to editing text, you can also comment on figures/tables and answer questions from the Copy Editor. Web-based proofing provides a faster and less error-prone process by allowing you to directly type your corrections, eliminating the potential introduction of errors.
If preferred, you can still choose to annotate and upload your edits on the PDF version. All instructions for proofing will be given in the e-mail we send to authors, including alternative methods to the online version and PDF.
We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. It is important to ensure that all corrections are sent back to us in one communication. Please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility.

Offprints

The corresponding author will, at no cost, receive a customized Share Link providing 50 days free access to the final published version of the article on ScienceDirect. The

Share Link can be used for sharing the article via any communication channel, including email and social media. For an extra charge, paper offprints can be ordered via the offprint order form which is sent once the article is accepted for publication. Both corresponding and co-authors may order offprints at any time via Elsevier's Author Services. Corresponding authors who have published their article gold open access do not receive a Share Link as their final published version of the article is available open access on ScienceDirect and can be shared through the article DOI link.